

# 五味자가 자외선유발 피부각질세포 손상에 미치는 효과

박형훈 · 이장석<sup>1</sup> · 윤 혁<sup>3</sup> · 황귀서<sup>2</sup> · 정명수<sup>1\*</sup>

원광대학교 한의학전문대학원 제3의학과, 1: 원광대학교 한의과대학 예방의학교실, 2: 가천대학교 한의과대학 예방의학교실, 3: 원광대학교 한의과대학 한방내과학교실

## Effect of Schisandrae Chinensis Fructus on Keratinocyte Damage by UV Irradiation

Hyung Hoon Park, Jang Suk Lee<sup>1</sup>, Hyuk Yun<sup>3</sup>, Gwiseo Hwang<sup>2</sup>, Myong Soo Chong<sup>1\*</sup>

*Department of Third Medicine, Professional Graduate School of Oriental Medicine,  
1: Department of Preventive Medicine, College of Oriental Medicine, Wonkwang University,  
2: Department of Preventive Medicine, College of Oriental Medicine, Gachon University,  
3: Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Wonkwang University*

This study was performed to assess the Effect of SCF(Schisandrae Chinensis Fructus) on Keratinocyte Damage by UV irradiation. The effect of SCF were determined in UV irradiated HaCaT. We measured LDH release and NO release from HaCaT to elucidate the effect of SCF. And iNOS, TNF- $\alpha$ , COX-2, Bax, Bcl-2, Bcl-xL, c-jun, c-fos gene expression were determined in HaCaT using real time PCR method. The results are as follows. SCF inhibited LDH-release, NO production in UV irradiated HaCaT. SCF increased the gene expression Bax, Bcl-2 and Bcl-xL protein in UV irradiated HaCaT. SCF suppressed the gene expression TNF- $\alpha$  in UV irradiated HaCaT. SCF suppressed the gene expression iNOS, c-fos, and c-jun in UV irradiated HaCaT. SCF not affected the suppression of the gene expression COX-2 in UV irradiated HaCaT. The study showed SCF inhibited the cell damage in UV irradiated HaCaT.

**Key words :** schizandrae chinensis fructus, HaCaT keratinocyte, UV irradiation

### 서 론

五味자(Schisandrae Chinensis Fructus, SCF)는五味자科에 속한 多年生 落葉 木質藤本인 오미자나무 및 同屬 近緣植物의 성숙한 과실로, 果肉은 유연하며 표면은 黑紅色 또는 白霜이 나타나기도 하며, 性味는 酸, 溫, 無毒하고, 歸經은 肺, 心, 腎 三經에 작용하며, 收斂固澀, 益氣生津, 澀精止瀉, 寧心安神 등의 효능이 있어 久咳虛喘, 夢遺, 滑精, 尿頻遺尿, 久瀉不止, 自汗盜汗, 津傷口渴, 心悸失眠, 健忘多夢 등의 병증을 치료한다<sup>1,2)</sup>.

오미자에 함유된 성분은 주로 lignan 화합물이며, 기름, 정유, 색소 등 다양한 성분이 함유되어 있는 것으로 보고되었다<sup>3,4)</sup>. 이 중 lignan 화합물은 gomisin N, schizandrin, gomisin C, schisantherin C, gomisine A 함량순으로 분리 확인되었으며<sup>5)</sup>, 유기산으로는 malic acid와 citric acid가 보고되었고, 구성페놀산

은 chlorogenic acid, coumalic acid, gentisic acid순으로 함유되었으며, 지질은 linoleic acid와 oleic acid가 주로 함유되었고, 정유 성분으로는 caryophyllene, calarene, cubebene, acoradiene,  $\beta$ -himachalene 등의 성분이 발견되었다<sup>6)</sup>.

오미자에 대한 실험 연구로는 항염증 효과, 항산화 효과, 항균 효과, 미백 효과, 멜라닌 생성 억제 효과, 항노화 및 주름개선 효과, 여드름 성장 억제 효과 등 피부와 관련된 보고<sup>7-11)</sup>들이 있다. 하지만 위의 연구들은 피부와 관련된 요소들에 대한 일정한 효과를 보고하고 있지만 피부각질세포 손상에 관여하는 주요 인자에 대한 오미자의 효과를 확인하기는 어려운 한계가 있다.

피부는 항상 자외선(UV)에 노출되어 있어, 자외선은 일상생활 시 접하게 되는 필수적인 요소 중 하나이다. 자외선은 그 파장에 따라 UVA, UVB, UVC로 나눌 수 있으며 이 중 UVB는 주로 표피에 영향을 주어 피부손상을 일으킨다<sup>12)</sup>.

한의학에서는 肺主皮毛라 하여 肺가 皮毛를 주관한다 하였으며, 폐와 근육·피부와는 밀접한 관계가 있으며 衛氣를 근육·피부에 보내서 체표를 固密시키고 저항력을 강하게 하여 外邪의

\* 교신저자 : 정명수, 익산시 신용동 원광대학교 한의과대학 예방의학교실

· E-mail : neurokid@wku.ac.kr, · Tel : 063-850-6912

· 접수 : 2012/03/20 · 수정 : 2012/06/09 · 채택 : 2012/06/11

침입을 막는다고 하였고<sup>13)</sup>, 오미자는 肺經에 작용하여 피부와 관련이 있고 선행 연구에서도 피부에 관련된 요소들에 대한 일정한 효과가 있다고 보고되었다<sup>7-11)</sup>. 이에 저자는 오미자의 추출물을 이용하여 자외선에 의한 피부각질세포의 손상에 미치는 영향에 대해서 평가하기 위하여, 사람의 각질세포인 HaCaT를 자외선 처리하여 LDH, NO 유리를 측정하였으며 Bax, Bcl-2, Bcl-xL, COX-2, TNF- $\alpha$ , c-fos, c-jun, iNOS의 유전자 발현에 미치는 영향을 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 시료추출 및 검액 제조

실험에 사용된 五味子(Schisandrae Chinensis Fructus, SCF)는 옴니허브(대구, 한국) 제품을 대한한약국(익산, 한국)에서 구입하여 사용하였다. 건조된 오미자 1 kg에 30%에탄올 2 L를 가하고, 수욕상에서 4시간 이상 환류 추출하여 얻어진 추출물을 감압 농축한 다음 동결 건조하여 추출분말 약 196 g을 얻었다. 실험 시에는 오미자 추출물을 DMSO 배지에 녹인 후, pore size 0.45  $\mu\text{m}$ 의 여과지를 통과시킨 후 사용하였다.

#### 2) 세포

실험에 사용된 인간 피부 각질세포주인 HaCaT keratinocyte는 Dr. Fusenig (German Cancer Research Center, DKFZ, Heidelberg, Germany)로부터 분양받아 사용하였다.

### 2. 실험방법

#### 1) 피부 각질세포에 미치는 영향 측정

##### (1) HaCaT 세포 배양

인간 피부 각질세포주인 HaCaT keratinocyte는 Dr. Fusenig(German Cancer Research Center, DKFZ, Heidelberg, Germany)로부터 분양받아 사용하였다. 세포는 DMEM에 10% FBS, penicillin-streptomycin(100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )이 첨가된 배지로 CO<sub>2</sub> incubator(37 $^{\circ}\text{C}$ , 5% CO<sub>2</sub>, 95% air)로 배양하였다. 세포 분주를 위해서는 0.25% trypsin-EDTA를 사용하였으며, 96well에서는 1x10<sup>4</sup>개/well, 24well에서는 1x10<sup>5</sup>개/well, 6well에서는 1x10<sup>6</sup>개/well의 세포를 가하여 15시간 배양한 후 실험에 사용하였다.

##### (2) 자외선 조사 및 약물처리

자외선 조사는 UVATEC(Sherman Oaks, CA, USA) 조사를 이용하였으며, UVB lamp를 사용하여 290-320 nm 파장을 가지는 자외선을 조사하였다. 광량은 IL1700 radiometer(International Light Inc., MA, USA)를 사용하여 측정하였다. 자외선을 조사하기 전에 1시간 동안 약물을 농도별로 가하여 미리 배양하였다. 자외선을 조사하기 위하여 DMEM 배지를 제거한 다음, PBS로 2번 씻어낸 후 자외선B 파장의 자외선을 30 mJ/cm<sup>2</sup>이 되도록 조사하였다. 자외선을 조사한 다음 PBS로 한번 씻어낸 후, 약물이 농도별로 함유된 새로운 DMEM 배지를 넣고 일정 시간동안 배양한 후 실험에 사용하였다.

##### (3) LDH 유리능 측정

세포를 96well plate를 이용하여 24시간 동안 미리 배양한 후, 1시간 동안 약물을 함유한 배지로 전처리하였다. 세포는 well 당 1x10<sup>4</sup>개씩 넣었다. 배양액을 제거한 후 각 well에 50  $\mu\text{l}$ 의 PBS(phosphate buffered saline)를 넣은 다음, 세포에 자외선B를 30 mJ/cm<sup>2</sup>를 조사한 후 PBS를 제거하고 well당 약물이 포함된 200  $\mu\text{l}$ 의 DMEM 배지를 첨가하였다. 24시간이 경과한 다음 배양액을 취하여 세포 손상의 지표로 LDH(lactate dehydrogenase) 활성을 측정하였다. LDH 활성은 Sigma사의 LDH kit(Sigma S 500)을 이용하여 정량하였으며, ELISA Reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

#### (4) Nitrite 생성능 측정

위에 기술한 LDH 측정법과 동일한 과정으로 배양한 다음 실험군에서 배지 상층액을 취하였다. NaNO<sub>2</sub> 용액의 연속적인 희석액을 만들어 최종농도가 0.05  $\mu\text{M}$ 이 되도록 조절하였다. 먼저 얻은 NaNO<sub>2</sub> 희석액에 동량의 Greiss reagent solution을 넣고, 15분간 상온에 방치한 다음 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 2) 유전자 발현에 대한 영향

##### (1) 총 RNA 분리

배양하고 있는 HaCaT 세포에 1 ml TRIzol reagent(Invitrogen, USA)를 처리하여 총 RNA를 분리하였다. 분리한 RNA 용액에 200  $\mu\text{l}$ 의 chloroform : isoamylalcohol(24:1)을 넣고 강하게 섞은 후 14,000 rpm으로 원심 분리하여 상층액 500  $\mu\text{l}$ 를 분리하였다. 0.5 ml isopropyl alcohol을 여기에 가하여 영하 20 $^{\circ}\text{C}$ 에서 하룻밤 동안 RNA를 침전시킨 후 1400 rpm으로 20분간 원심 분리하였다. 상층액을 버린 후 70% 에탄올로 세척하고 자연 건조시켰다. RNase free water에서 RNA를 녹인 후 RNase-free DNase를 첨가하고 -70 $^{\circ}\text{C}$ 에서 저장하였다.

##### (2) cDNA 제조

대조군 및 시험군에서 각각 분리한 total RNA 액 1  $\mu\text{l}$ (1  $\mu\text{g}$  RNA 함유)에 oligo dT(농도 100 pmol) 1 $\mu\text{l}$ , RNase free water 3 $\mu\text{l}$ 을 넣은 후 조심스럽게 혼합한 다음, 65 $^{\circ}\text{C}$ 에서 10분간 incubation하였다. Primer가 annealing하도록 4 $^{\circ}\text{C}$ 에서 약 5분간 방치한 다음, Reverse transcriptase buffer, dNTP(각 2.5 mM), RNase inhibitor, DTT(100 nM), Reverse transcriptase(M-MLV 200U/ $\mu\text{l}$ )을 첨가한 후, 아주 조심스럽게 혼합하였다. 이후, 42 $^{\circ}\text{C}$ 에서 90분간 incubation한 후, 95 $^{\circ}\text{C}$ 에서 5분간 처리한 후 사용하였다.

##### (3) Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction(RT-PCR)

Oligo(dT) 16-18(Promega, USA), reaction buffer(50 mM Tris-HCl, 75 mM KCl, 3 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM DTT, pH 8.3), 1 mM dNTP(Bitools, Spain)과 200 unit M-MLV-RT(Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase, Promega)를 분리한 RNA에 처리하여 역전사를 수행함으로써 cDNA를 합성하였다. PCR은 total volume 25  $\mu\text{l}$ 에 10X PCR buffer, 0.2 mM dNTPs, 2 pmole의 sense 및 antisense primer를 넣은 혼합액에 cDNA와 1.25 unit의 Tag polymerase (Bitools, Spain)을 넣어 PCR을 시행하였다. PCR 조건은 94 $^{\circ}\text{C}$  4분, 30 cycles의 [94 $^{\circ}\text{C}$  (20초), 54 $^{\circ}\text{C}$  (20초), 72 $^{\circ}\text{C}$  (30초)], 72 $^{\circ}\text{C}$  10분이었다(Perkin Elmer,

USA). 증폭된 PCR 산물을 2% agarose gel에 전기영동하였다. 전기영동 결과 나온 band를 density 분석 프로그램인 Gel-Pro analyzer 3.1(Media Cybernetics, USA)을 이용하여 구했다. RT-PCR에 사용한 primer는 아래 Table 1에 표시하였다.

(4) Real time RT-PCR

각각의 optical tube(MicroAmp® Optical 96-Well Reaction Plate with Barcode and Optical Adhesive Films, Applied Biosystems, Cat.No. 4314320)에 3배의 SybrGreen Mix 2.5 μl(Sigma-Aldrich, Cat.No. S9430), 위에서 합성한 cDNA 1 μl, 10 pmol/μl primer pair mix 1 μl, 각각 2.5 mM의 dNTP 2 μl, 10 xTag polymerase buffer 2.5 μl, Tag Polymerase 0.3μl와 14.7 μl H<sub>2</sub>O를 넣고, 95°C 5min 1 cycle, 95°C 30sec, 45°C 30sec, 72°C 60sec 40 cycles, 95°C 20min 1 cycle로 증폭시켰다. Primer는 RT-PCR에 사용한 것을 이용하였다. PCR을 마친 후 tube를 꺼낸 다음, 반응액 5 μl를 사용하여 3% agarose gel에서 PCR specificity를 측정하고, ABI PRISM® 7000 Sequence Detection System (Applied Biosystems, Cat.No. 4349157)을 사용하여 real time PCR 결과를 분석하였다.

Table 1. Primer Sequence

Primer	Sense	Antisense
COX-2	TTC AAA TGA GAT TGT GGG AAA AT	AGA TCA TCT CTG CCT GAG TAT CTT
iNOS	CGG TGC TGT ATT TCC TTA CGA GGC GAA GAA GG	GGT GCT GTC TGT TAG GAG GTC CAA GTA AAG GGC
TNF-α	TGC ACC ACA GTT TAA ACC CA	GAC TCC TTC AGG TGC TCA GG
c-Jun	GGA TCA AGG CGG AGA GGA AG	GCG TTA GCA TGA GTT GGC AC
c-Fos	GGA GAA TCC GAA GGA AAG G	GCT TGG GCT CAG GGT CAT TG
Bcl-2	ACT CTG CTC AGT TTC GCC CT	TTG TGG CTC AGA TAG GCA C
Bax	ATG GAC GGG TCC GGG GAG CA	TGT TAC TGT CCA GTT CGT CC
Bcl-XL	ATG TCT CAG AGC AAC CGG CAG CCT CGT CCC GTA G	TCT TTC CGA CTG AAG AGT G CAC GAC ATA CTC AGC ACC GGC
GAPDH	AC AAA	GGC

3. 통계처리

각 결과에 대한 유의성 검증은 Student's t-test를 이용하였고 p<0.05인 경우 유의성이 있다고 판정하였다.

결 과

1. 피부 각질세포에 미치는 영향

1) 자외선B에 의한 LDH 유리에 미치는 영향  
 자외선B에 의한 피부 각질 세포 손상을 측정하기 위하여, HaCaT 세포에 자외선B를 조사한 후 유리되는 LDH를 측정하였다. 측정 결과, 자외선B 조사 시에 세포로부터 LDH의 유리가 증가하여 세포가 손상됨을 확인하였다. 또한, 오미자 추출물을 처리한 경우, 자외선B로 조사한 대조군에 비해 LDH의 유리를 억제하여, 자외선B에 의한 세포 손상을 억제하는 작용을 나타내었다(Fig. 1).

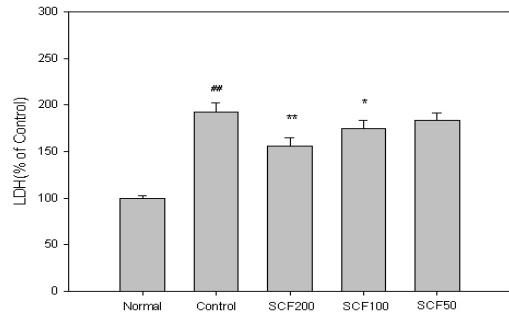


Fig. 1. Effect of SCF on the LDH Release of UV-irradiated HaCaT Keratinocytes. Cells were UV-irradiated(30 mJ/cm<sup>2</sup>) and further incubated with SCF. The LDH released in media was measured. The results are expressed as mean ± SE. Normal. Control: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>). SCF200: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(200 μg/ml). SCF100: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(100 μg/ml). SCF50: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(50 μg/ml). ##: p<0.01 vs Normal. \*\*: p<0.01 vs Control. \*: p<0.05 vs Control

2) 자외선B에 의한 Nitrite 생성능에 미치는 영향

자외선B에 의한 피부 각질 세포의 산화적 스트레스를 측정하기 위하여, HaCaT 세포에 자외선B를 조사한 후 생성되는 nitrite를 측정하였다. 측정결과, 자외선B 조사 시에 세포에서 생성되는 nitrite 양이 증가하였다. 또한, 오미자 추출물을 처리한 경우, 자외선B로 조사한 대조군에 비해 nitrite 생성을 억제하여, 자외선B에 의한 산화적 스트레스를 억제하는 작용을 나타내었다(Fig. 2).

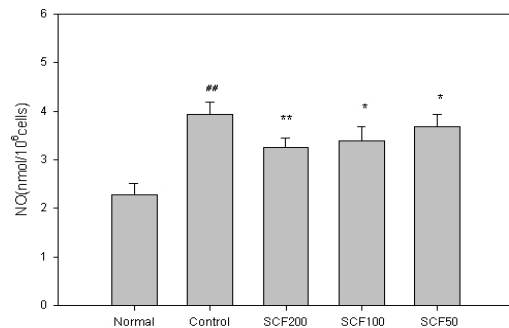


Fig. 2. Effect of SCF on the Nitrite Production of UV-irradiated HaCaT Keratinocytes. Cells were UVB-irradiated(30 mJ/cm<sup>2</sup>) and further incubated with SCF. The results are expressed as mean ± SE. Normal. Control: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>). SCF200: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(200 μg/ml). SCF100: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(100 μg/ml). SCF50: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(50 μg/ml). ##: p<0.01 vs Normal. \*\*: p<0.01 vs Control. \*: p<0.05 vs Control

2. 피부 각질세포의 유전자 발현에 미치는 영향

1) 자외선B에 의한 Bax 유전자 발현에 미치는 영향

Bcl family 유전자들은 산화적 스트레스를 비롯한 세포 사멸을 억제하는 작용을 나타내는 anti-apoptosis 작용을 나타낸다. 이 중 Bax 유전자는 자외선B에 의해 정상에 비해 감소하는 것으로 보고되었다. 실험결과, 자외선B 조사 시에 세포에서 생성되는 Bax의 mRNA의 생성이 감소하였다. 또한, 오미자 추출물을 처리한 경우, 자외선B로 조사한 대조군에서 감소한 Bax 유전자 발현을 증가시켜, 자외선B에 의한 세포 사멸에 저항성을 가지는 것으로 나타났다(Fig. 3).

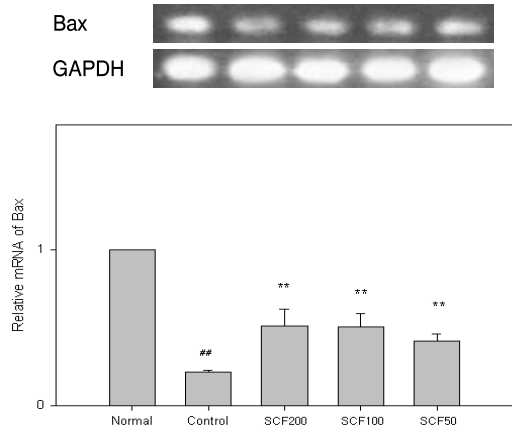


Fig. 3. Effect of SCF on the Bax Gene Expression of UV-irradiated HaCaT Keratinocytes. Normal. Control: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>). SCF200: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(200 µg/ml). SCF100: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(100 µg/ml). SCF50: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(50 µg/ml). ##: p<0.01 vs Normal. \*\*: p<0.01 vs Control

2) 자외선B에 의한 Bcl-2 유전자 발현에 미치는 영향

자외선B에 의한 피부 각질 세포의 세포 사멸에 저항하는 유전자인 Bcl family 생성에 미치는 영향을 측정하기 위하여, Bcl-2 유전자 발현을 측정하였다. 측정결과, 자외선B 조사 시에 세포에서 생성되는 Bcl-2의 mRNA의 생성이 약간 감소하였다. 또한, 오미자 추출물을 처리한 경우, 자외선B로 조사한 대조군에서 감소한 Bcl-2 유전자 발현을 증가시켜, 자외선B에 의한 세포 사멸에 저항성을 가지는 것으로 나타났다(Fig. 4).

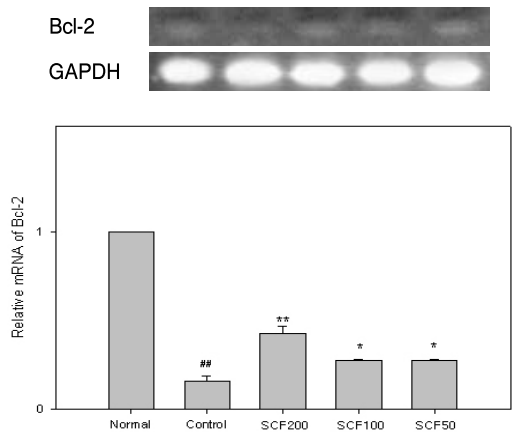


Fig. 4. Effect of SCF on the Bcl-2 Gene Expression of UV-irradiated HaCaT Keratinocytes. Normal. Control: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>). SCF200: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(200µg/ml). SCF100: UV(30mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(100µg/ml). SCF50: UV(30mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(50µg/ml). ##: p<0.01 vs Normal. \*\*: p<0.01 vs Control. \*: p<0.05 vs Control

3) 자외선B에 의한 Bcl-xL 유전자 발현에 미치는 영향

Bcl-xL은 세포 괴사를 억제하는 단백질인 Bcl-2 계열의 단백질이다. 실험결과, 자외선B 조사 시에 세포에서 생성되는 Bcl-xL의 mRNA의 생성이 증가하였다. 또한, 오미자 추출물을 처리한 경우, 자외선B로 조사한 대조군에서 증가한 Bcl-xL 유전자 발현을 감소시켜, 자외선B에 의한 세포 사멸에 저항성을 가지는 것으로 나타났다(Fig. 5).

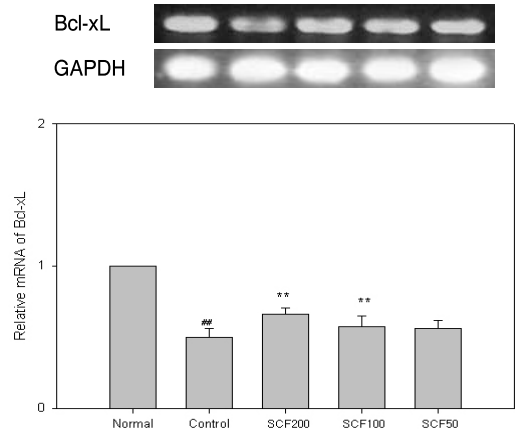


Fig. 5. Effect of SCF on the Bcl-xL Gene Expression of UV-irradiated HaCaT Keratinocytes. Normal. Control: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>). SCF200: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(200 µg/ml). SCF100: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(100 µg/ml). SCF50: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(50 µg/ml). ##: p<0.01 vs Normal, \*\*: p<0.01 vs Control

4) 자외선B에 의한 COX-2 유전자 발현에 미치는 영향

자외선B에 의한 피부 각질 세포의 PGE2 생성에 미치는 영향을 측정하기 위하여, PGE2 생성에 관여하는 COX-2의 유전자 발현을 자외선B를 조사한 세포로부터 측정하였다. 측정결과, 자외선B 조사 시에 세포에서 생성되는 COX-2의 mRNA의 생성이 증가하였다. 그러나 오미자 추출물을 처리한 경우, 자외선B로 조사한 대조군에 비해 COX-2 유전자 발현의 억제는 유의한 결과를 얻지 못하였다(Fig. 6).

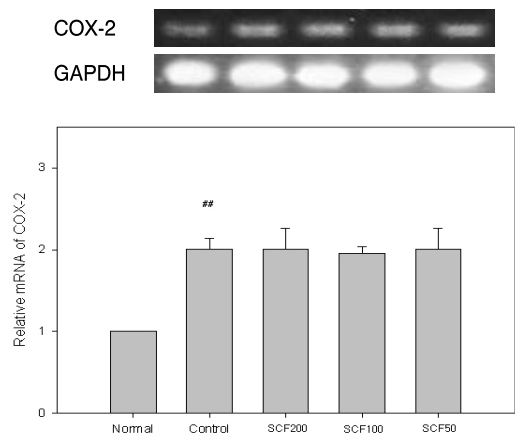


Fig. 6. Effect of SCF on the COX-2 Gene Expression of UV-irradiated HaCaT Keratinocytes. Normal. Control: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>). SCF200: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(200 µg/ml). SCF100: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(100 µg/ml). SCF50: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(50 µg/ml). ##: p<0.01 vs Normal

5) 자외선B에 의한 TNF-α 유전자 발현에 미치는 영향

Keratinocyte에서 분비한 IL-1과 TNF-α는 fibroblast에 작용하여 MMP-1 등 collagen을 분해하는 효소들의 발현을 촉진한다. 실험결과, 자외선B 조사 시에 세포에서 생성되는 TNF-α의 mRNA의 생성이 증가하였다. 또한, 오미자 추출물을 처리한 경우, 자외선B로 조사한 대조군에서 증가한 TNF-α 유전자 발현을 감소시켜, 자외선B에 의한 염증반응을 억제할 수 있는 것으로 나

타났다(Fig. 7).

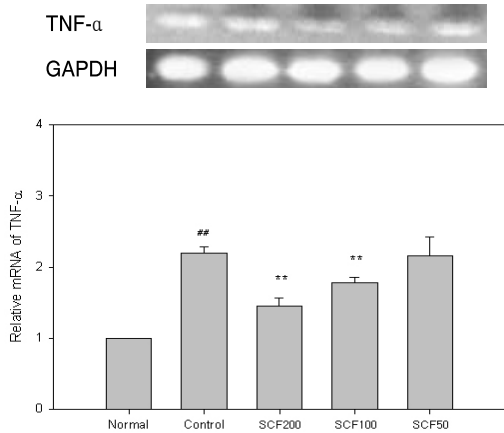


Fig. 7. Effect of SCF on the TNF- $\alpha$  Gene Expression of UV-irradiated HaCaT Keratinocytes. Normal. Control: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>). SCF200: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(200  $\mu$ g/ml). SCF100: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(100  $\mu$ g/ml). SCF50: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(50  $\mu$ g/ml). ##: p<0.01 vs Normal. \*\*: p<0.01 vs Control

6) 자외선B에 의한 c-jun 유전자 발현에 미치는 영향

c-jun은 MMP 등의 단백질 발현에 관여하는 신호전달 단백질 전사인자이다. 실험결과, 자외선B 조사 시에 세포에서 생성되는 c-jun의 mRNA의 생성이 증가하였다. 또한, 오미자 추출물을 처리한 경우, 자외선B로 조사한 대조군에서 증가한 c-jun 유전자 발현을 감소시켜, 자외선B에 의한 단백질발현을 조절하는 인자를 억제할 수 있는 것으로 나타났다(Fig. 8).

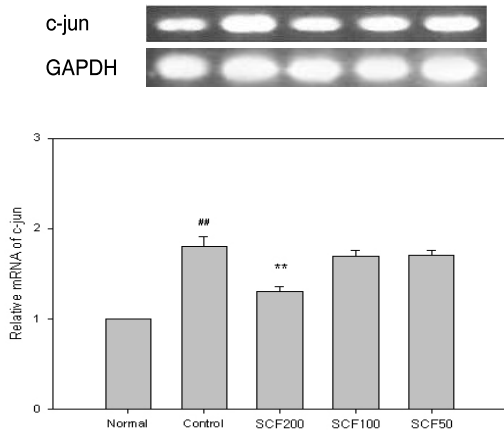


Fig. 8. Effect of SCF on the c-jun Gene Expression of UV-irradiated HaCaT Keratinocytes. Normal. Control: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>). SCF200: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(200  $\mu$ g/ml). SCF100: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(100  $\mu$ g/ml). SCF50: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(50  $\mu$ g/ml). ##: p<0.01 vs Normal. \*\*: p<0.01 vs Control

7) 자외선B에 의한 c-fos 유전자 발현에 미치는 영향

c-fos는 MMP 등의 단백질 발현에 관여하는 신호전달 단백질 전사인자이다. 실험결과, 자외선B 조사 시에 세포에서 생성되는 c-fos의 mRNA의 생성이 증가하였다. 또한, 오미자 추출물을 처리한 경우, 자외선B로 조사한 대조군에서 증가한 c-fos 유전자 발현을 감소시켜, 자외선B에 의한 단백질발현을 조절하는 인자

를 억제할 수 있는 것으로 나타났다(Fig. 9).

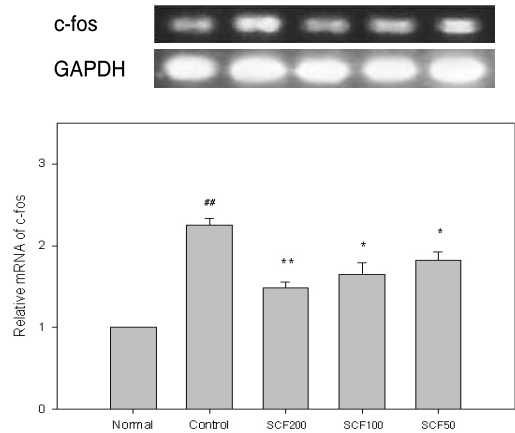


Fig. 9. Effect of SCF on the c-fos Gene Expression of UV-irradiated HaCaT Keratinocytes. Normal. Control: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>). SCF200: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(200  $\mu$ g/ml). SCF100: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(100  $\mu$ g/ml). SCF50: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(50  $\mu$ g/ml). ##: p<0.01 vs Normal. \*\*: p<0.01 vs Control. \*: p<0.05 vs Control

8) 자외선B에 의한 iNOS 유전자 발현에 미치는 영향

iNOS는 세포 손상을 유발하는 염증반응을 유발하는 유전자이다. 실험결과, 자외선B 조사 시에 세포에서 생성되는 iNOS의 mRNA의 생성이 증가하였다. 또한, 오미자 추출물을 처리한 경우, 자외선B로 조사한 대조군에서 증가한 iNOS 유전자 발현을 감소시켜, 자외선B에 의한 HaCaT의 염증작용을 억제하는 것으로 나타났다(Fig. 10).

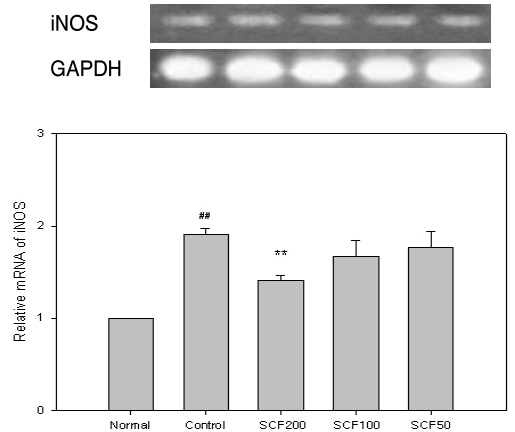


Fig. 10. Effect of SCF on the iNOS Gene Expression of UV-irradiated HaCaT Keratinocytes. Normal. Control: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>). SCF200: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(200  $\mu$ g/ml). SCF100: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(100  $\mu$ g/ml). SCF50: UV(30 mJ/cm<sup>2</sup>) + SCF(50  $\mu$ g/ml). ##: p<0.01 vs Normal. \*\*: p<0.01 vs Control

고 찰

자외선(UV)은 일상생활 시 접하게 되는 필수적인 요소 중 하나로 파장에 따라 UVA, UVB, UVC로 나눌 수 있으며 이 중 자외선B는 주로 표피에 영향을 주어 피부손상을 일으킨다<sup>12)</sup>. 이러한 자외선량의 증가는 일광화상, 피부노화, 광과민성 피부병,

후천적인 색소침착과 다양한 색소성 피부질환, 돌연변이 그리고 피부암을 유발시키기도 한다<sup>14)</sup>. 자외선에 피부가 노출되면 산화적 스트레스를 유발하고, 이로 인해 피부세포 사멸과정이 진행되어 피부노화가 촉진된다고 알려져 있다. 자외선은 일차적으로 피부 표면에 존재하는 각질세포에 작용하여 활성산소의 생성을 자극하며 피부 세포의 사멸을 촉진한다. 이와 함께 다양한 세포자극물질을 유리시켜 피부를 보호하는 작용과 피부의 병적현상을 유발하기도 한다. 진피까지 침투한 자외선은 collagen의 파괴를 촉진하거나 섬유아세포에서 collagen 합성을 억제하여 피부두께를 얇게 하여 주름살을 생성시킨다<sup>15)</sup>. 이러한 자외선의 피부에 대한 상해 작용은 keratinocyte, dermal fibroblast, melanocyte에 직접적으로 작용하여 나타날 수 있다. 그러나 UV에 대한 피부 보호 작용과 및 병리적 세포반응에 이들 세포들이 사이토카인을 분비하여 상호 조절하기도 한다<sup>16-18)</sup>.

한의학적으로 皮毛란 신체의 외층을 포괄하는 表皮를 의미한다. 즉 皮膚 汗腺 및 毛 등도 포함하고 있으며, 外邪들의 침입에 대하여 방위하는 벽으로 인식하고 있다<sup>19)</sup>. 또한, 피부와의 관계에 있어서는 《黃帝內經素問·六節臟象論》에서는 “肺者 其華在毛 其充在皮”라 하여 폐의 번성함은 모에 나타나고 그 채우는 곳은 피부라 하였고, 《素問·五臟生成》에서는 “肺之合皮也 其榮毛也”라 하여 폐와 합하는 것은 피부이고 그 화려함은 모에 나타난다고 하였으며, 《素問·痿論》에서는 “肺主身之皮毛”라 하여 폐는 신체의 피모를 주관한다고 하여 피부와 폐와의 연관성을 설명하였다<sup>20)</sup>. 이를 근거로 보면 肺經에 작용하는 약물이 피부에 효능이 있을 것으로 기대된다.

五味子(Schisandrae Chinensis Fructus)는五味子科에 속한 多年生 落葉 木質藤本인 오미자나무 및 同屬 近緣植物의 성숙한 과실로, 가을철에 과실이 붉게 익었을 때 채취하여 햇볕에 말려 사용하며 우리나라 전국의 고산 구릉지에 자생하며 재배도 한다. 果肉은 유연하며 표면은 黑紅色 또는 白霜이 나타나기도 하며, 性味는 酸, 溫, 無毒하고, 歸經은 肺, 心, 腎 三經에 작용하며, 收斂固澁, 益氣生津, 澀精止瀉, 寧心安神 등의 효능이 있어 久咳虛喘, 夢遺, 滑精, 尿頻遺尿, 久瀉不止, 自汗盜汗, 津傷口渴, 心悸失眠, 健忘多夢, 등의 병증을 치료한다<sup>1,2)</sup>.

오미자에 대한 피부와 관련된 선행 실험 연구를 보면, 오미자 추출물에 의한 IκB degradation과 NF-κB의 억제가 염증 진행 과정을 통제하는 항염증 효과가 확인됐으며<sup>7)</sup>, 오미자 추출물이 항산화효과, 미백효과, 항균효과, 피부 재생효과가 있는 것으로 보고되고 있고<sup>8)</sup>, 오미자 추출물의 CHCl<sub>3</sub> 분획물은 melanin 생성에 관여하는 tyrosinase 및 TRP-1, TRP-2, PKA 발현을 억제하여 melanocyte의 tyrosinase의 생합성을 억제하여 melanin 합성을 억제하는 것으로 나타났다<sup>9)</sup>. 또한 오미자 추출물은 콜라겐 합성과 MMP-1 저해 효과를 통한 주름 개선에 효능이 있었으며<sup>10)</sup>, 여드름 원인균으로 알려진 Propionibacterium acnes, Staphylococcus epidermidis 와 malassezia furfur에 대한 증식 억제 효과가 있었다<sup>11)</sup>. 하지만 위의 연구들은 피부와 관련된 요소들에 대한 일정한 효과를 보고하고 있지만 피부각질세포 손상에 관여하는 주요 인자에 대한 오미자의 효과를 확인하기는 어

려운 한계가 있다.

오미자는 肺經에 작용하여 피부와 관련이 있고 선행 연구에서도 피부에 관련된 요소들에 대한 일정한 효과가 있다고 보고되어<sup>7-11)</sup>, 본 연구에서는 오미자의 추출물을 이용하여 자외선B에 의한 피부각질세포의 손상에 미치는 영향에 대해서 평가하고자 하였다. 우선 자외선B에 의한 각질세포의 세포사멸에 대한 오미자의 영향을 평가하고자 각질세포의 세포손상을 측정하였다. LDH(lactate dehydrogenase)는 세포 내막에 존재하므로 세포가 파괴되어야 세포 밖으로 유출될 수 있어 세포의 상해여부를 측정하는 유력한 기준이 된다. 실험결과, 자외선B는 배양된 인간 각질세포인 HaCaT 세포의 손상을 증가시켜 LDH의 유리를 증가시켰으며, 오미자 추출물은 자외선B에 의해 유리가 증가된 LDH 활성을 억제하였다. 이는 오미자가 자외선B에 의한 ROS 생성 증가와 ROS 물질로 인한 단백질, 지방, 핵산 등 생체 구성물질의 변성 억제할 수 있는 것으로 추정되었다. 따라서 ROS의 일종으로 NO synthesis 과정을 통해 형성되는 nitrite 생성에 미치는 영향에 대하여 평가하고자 하였다. NO를 생성하는 효소인 NOS는 각각의 생성되는 위치에 따라 신경계의 nNOS(neuronal NO synthase), 혈관내피세포의 eNOS(endothelial NOS), 대식세포 등에서 발현하는 유도성 iNOS(inducible NOS) 등이 존재한다. 이 중 iNOS에 의해 생성되는 iNO는 혈관을 수축시키며 염증 반응을 유발할 수 있다. 이 염증반응은 세포에 상해를 유발하며 염증관련 인자들의 신호전달과정에 관여하는 것으로 알려져 있다<sup>21,22)</sup>. 실험결과, 자외선B는 HaCaT 세포의 iNOS 유전자 발현을 증가시켜 염증반응을 증가시키는 것으로 나타났으며, 오미자는 이를 억제하여 유도성 NO로 유발되는 염증 반응을 억제할 수 있을 것으로 판단되었다. 세포는 다양한 인자들 - 산화성 스트레스, hypoxic stress, 자외선 등 - 에 의해 apoptosis가 유발되며 Bcl-2족 단백질은 apoptosis를 조절하는 단백질로 알려져 있고, Bcl-2와 그와 유사한 Bcl-xL, Bax 등으로 구성되어 있다<sup>23)</sup>. 기존의 연구에서 자외선B의 조사는 세포내에서 Bcl-2족의 단백질인 Bcl-xL 및 Bax의 발현을 억제하는 것으로 보고되었다<sup>24)</sup>. 본 연구에서 실험한 결과, 자외선B를 조사한 HaCaT 세포에서 Bcl-xL과 Bax의 발현이 억제되어 기존의 논문 및 선행 연구 결과들과의 상관성이 인정되었다. 오미자를 처리한 경우에는 자외선B에 의해 억제된 Bax, Bcl-2 및 Bcl-xL 단백질 발현을 오미자가 회복시키는 것으로 나타났다. 이 작용은 오미자가 자외선B에 의해 증가하는 apoptosis를 억제하는 기능과 촉진하는 역할을 동시에 할 가능성을 시사한다.

이 밖에 피부 각질세포의 손상은 PGE2(prostaglandin E2)의 생합성과 상관성이 인정되었다. COX-2는 UV에 의한 염증반응에 관여하는 PGE2의 생합성을 촉진하는 효소로 자외선에 의해 발현이 증가한다고 알려져 있다. 자외선B에 의해 HaCaT cell 표면의 EGFR/erbB1R 수용체가 활성화되면 pp60src 활성화를 거쳐 ERK/p38/PI3K 신호전달과정이 활성화되고 연속적으로 COX-2의 활성 및 유전자 발현이 증가한다. COX-2 발현은 대부분 TPA에 의해 나타나는 PKC의 활성화와 JNK(c-jun NH2-terminal kinase)의 활성화에 의해서 나타나지만, HaCaT

세포의 경우 JNK를 억제하여도 COX-2의 발현이 억제되지 않는다는 보고가 있다<sup>25)</sup>. 본 연구에서 자외선B 조사에 의해 HaCaT cell에서 COX-2 유전자 발현이 현저히 증가되는 것을 관찰하였다. 이것은 자외선B에 의해 iNOS 발현이 증가하고, nitrite 생성이 증가하는 것과 함께 염증반응을 증폭시킬 것으로 판단된다. 그러나 오미자를 처리한 실험결과, 오미자는 자외선B에 의해 증가하는 COX-2 발현을 억제하는 것에 대해서는 유의한 결과가 나타나지 않았다.

자외선과 같은 외부 환경적 인자로 인한 피부 각질세포 손상은 피부세포들 사이의 신호전달에 중요한 역할을 하는 TGF- $\beta$  (transforming growth factor), TNF- $\alpha$ (tumor necrosis factor), PGE2(prostaglandin E2),  $\alpha$ -MSH(melanocyte stimulating hormone), GSF(granulocyte stimulating factor), IL(interleukin)-1, IL-6, IL-8, IL-10 등의 분비를 증가시킨다<sup>16-18,26)</sup>. 이 중 TNF- $\alpha$ , IL-1 등은 피부 진피세포인 섬유아세포(Fibroblast)에 작용하여 MMP-1(matrix metalloproteinase1), TIMP-1(tissue inhibitor of metalloproteinase1), procollagen 등의 생합성을 증가시킬 수 있다<sup>17,18)</sup>. 그러나 장시간 자외선을 조사하는 경우 procollagen의 합성과 TIMP-1의 발현이 억제되어 collagen의 진피조직의 합성이 감소한다. 이와는 별도로 MMP-1은 진피조직의 성분인 collagen을 분해하여 피부의 탄력을 저하시켜 피부노화를 촉진하게 된다<sup>15)</sup>. 실험결과, 자외선B는 피부각질세포에서 TNF- $\alpha$  유전자 발현을 현저히 증가시켰으며, 오미자는 자외선B에 의해 증가된 TNF- $\alpha$  유전자 발현을 현저히 억제하였다. 이러한 오미자의 효능은 자외선에 의해서 감소하는 피부의 탄력을 collagen 분해를 담당하는 MMP-1의 작용을 TNF- $\alpha$  발현을 억제하여 억제할 수 있을 것으로 판단된다.

각질세포와 진피조직의 섬유아세포의 단백질의 발현에는 PKC(protein kinase C)의 활성화와 AP-1, NF- $\kappa$ B 등의 전사인자(transcription factors) 활성화를 필요로 한다. Keratinocyte에서 유리되는 TGF- $\beta$ , PGE2,  $\alpha$ -MSH는 자외선에 의해 증가하며, 이들은 melanocyte를 활성화시켜 melanin 생합성을 증가시킨다. 또한, UV에 의해 피부 각질세포로부터 유리가 증가되는 TNF- $\alpha$ , IL-1 등은 피부 진피세포인 섬유아세포(fibroblast)에 작용하여 MMP-1(matrix metalloproteinase-1), TIMP-1(tissue inhibitor of metalloproteinase-1), procollagen 등의 생합성을 증가시킬 수 있다<sup>17,18)</sup>. Collagen은 전신의 결합조직을 구성하는 단백질로서 선구체인 procollagen로서 형성된다. Procollagen은 성숙한 collagen과 여분의 peptide로 구성되어 있는데, 이 peptide는 collagen이 성장하고 있는 collagen fibril로 끼어 들어가기 전에 특이한 protease인 MMP들에 의해 분해한다. 대표적으로 MMP-1은 진피조직의 주성분인 type I collagen 분해를 촉진한다. 또한 자외선은 collagen 합성을 비정상적으로 억제하여 피부노화에 결정적 역할을 하게 된다. 이러한 결과는 MMP 등의 단백질 발현에 관여하는 신호전달 단백질인 PKC(protein kinase C), AP-1과 전사인자인 c-fos, c-jun, NF- $\kappa$ B 등의 활성화와 관련이 있다<sup>27)</sup>. 선행 연구에서 NF- $\kappa$ B를 불활성화시키면 염증을 유발하는 iNOS와 COX-2의 발현이 억제된다고 알려져 있으며, 자외

선B를 조사한 keratinocyte에서 c-jun과 NF- $\kappa$ B의 발현이 증가된다고 보고하였다<sup>28)</sup>. 본 연구 실험결과에서 자외선B를 조사한 keratinocyte에서 c-jun, c-fos의 발현이 증가하는 것을 확인했으며 오미자 추출물은 이를 억제하였다.

이상의 결과, 오미자 추출물은 자외선B에 의한 피부각질세포의 손상을 억제하였으며, 이는 자외선B에 의해서 증가하는 apoptosis 관련 인자와 이들의 발현을 조절하는 단백질의 발현을 억제하여 나타난 결과로 판단된다.

본 연구를 통해 오미자 추출물은 피부노화방지와 손상된 피부의 개선에 유용하게 활용될 수 있으리라고 본다. 또한, 향후 오미자 추출물의 경구투여와 피부 도포 시 나타나는 효과에 대한 비교 등에 대한 연구는 더 필요할 것으로 사료된다.

## 결론

오미자가 자외선유발 피부각질세포의 손상에 미치는 효과를 알아보기 위하여, 사람의 피부각질세포인 HaCaT에 자외선B를 조사한 후 오미자 추출물로 처리하여 LDH 유리, NO 생성, Bax, Bcl-2, Bcl-xL, COX-2, TNF- $\alpha$ , c-jun, c-fos 및 iNOS의 유전자 발현에 미치는 영향을 평가하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

오미자 추출물은 UVB로 자극된 피부각질세포주인 HaCaT의 손상으로 인한 LDH 유리와 NO의 생성을 억제하였다. 오미자 추출물은 HaCaT 세포에서 Bax, Bcl-2 및 Bcl-xL 단백질 유전자 발현을 증가시켰다. 오미자 추출물은 TNF- $\alpha$ 의 발현을 억제하였다. 오미자 추출물은 자외선B에 의한 iNOS 발현과 전사인자인 c-jun, c-fos의 발현을 억제하였다. 오미자 추출물은 MMP-1을 증가시킬 수 있는 COX-2의 발현을 억제하는 데는 영향을 주지 못하였다. 이상의 결과, 오미자는 직접적으로 자외선으로 자극된 피부 각질세포를 보호하는 작용이 있으며, 자외선 조사 시에 피부 광노화에 관여하는 인자들을 억제할 수 있는 것으로 판단되어 피부노화방지와 손상된 피부의 개선에 유용하게 활용될 수 있으리라고 본다.

## 감사의 글

이 논문은 2011학년도 원광대학교 교비지원에 의해서 수행되었습니다.

## 참고문헌

1. 신민교. 정화임상본초학, 서울, 영림사, pp 280-282, 2010.
2. 전국한의과대학 공동교재편찬위원회 : 본초학, 서울, 영림사, p 685, 686, 2005.
3. Yang, H.C., Lee, J.H., Song, K.B. Anthocyanins in cultured Omija (*Schizandra chinensis* Baillon) and its stability. *Kor J Agric Chem* 25(1):35-43, 1982.
4. Kim, O.C., Jang, H.J. Volatile components of *Schizandra chinensis* Baillon. *Kor J Agric Chem Biotech* 39(1):30-36,

- 1994.
5. 김관수, 강삼식, 류수노. 오미자 리그난 성분의 정량분석, 생약학회지 33(4):272-276, 2002.
  6. 현규환, 김학진, 정현채. 오미자 성분에 관한 연구, 한국자원식물학회지 15(1):1-7, 2002.
  7. 조선희. 인간 비만 세포주에서 CYTOKINE 분비에 대한 오미자 추출물의 항염증 효과, 원광대학교 대학원 박사학위논문, 2006.
  8. 최현숙. 오미자 종자 추출물이 피부에 미치는 영향, 대구가톨릭대학교 대학원 박사학위논문, 2009.
  9. 두인선, 임규상, 황충연, 박민철, 김남권. 오미자의 멜라닌 생성 억제와 미백 효과에 관한 연구, 한방안이비인후피부과학회지 20(3):51-62, 2007.
  10. 김인덕, 권륜희, 허예영, 정혜진, 간환열, 하배진. 한방원료의 초임계 추출을 이용한 항노화 및 주름개선 효과, 한국생물과학회지 23(6):529-534, 2008.
  11. Seong, J.M., Park, N.Y., Lee, S.H. Effect of Schizandra chinensis and Pine Needle on Growth of Pathogens Relate to Acne. Kor J Microbiol Biotechnol 31(1):69-74, 2003.
  12. Fisher, G.J., Wang, Z.Q., Datta, S.C., Varani, J., Kang, S., Voorhees, J.J. Pathophysiology of premature skin aging induced by ultraviolet light. N Engl J med 337: 1419-1428, 1997.
  13. 신민교. 최신한방임상진료, 서울, 영림사, p 47, 1996.
  14. Pathak, M.A. Sunscreen and their use in the preventive treatment of sunlight-induced skin damage. J Dermatol Surg Oncol 13(7):739-750, 1987.
  15. Brenneisen, P., Wenk, J., Klotz, L.O., Wlaschek, M., Briviba, K., Krieg, T., Sies, H., Scharffetter-Kochanek, K. Central role of ferrous/ferric iron in the ultraviolet B irradiation-mediated signaling pathway leading to increased interstitial collagenase (matrix-degrading metalloproteinase (MMP)-1) and stromelysin-1 (MMP-3) mRNA levels in cultured human dermal fibroblasts. J Biol Chem 273(9):5279-5287, 1998.
  16. Lee, K.S., Lee, W.S., Suh, S.I., Kim, S.P., Lee, S.R., Ryoo, Y.W., Kim, B.C. Melatonin reduces ultraviolet-B induced cell damages and polyamine levels in human skin fibroblasts in culture. Exp Mol Med 35(4):263-268, 2003.
  17. Millis, A.J.T., Hoyle, M., McCue, H.M., Martini, H. Differential expression of metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinase genes in aged human fibroblasts. Exp Cell Res 201: 373-379, 1992.
  18. Cha, H.J., Bae, S.K., Lee, H.Y., Lee, O.H., Sato, H., Seiki, M., Park, B.C., Kim, K.W. Anti-invasive activity of ursolic acid correlates with the reduced expression of matrix metalloproteinase-9(MMP-9) in HT1080 human fibrosarcoma cells. Cancer Res 56: 2281-2284, 1996.
  19. 동양의학융합연구소. 임상동서의학, 서울, 영림사, p 280, 1997.
  20. 최형주. 황제내경소문 상, 서울, 자유문고, p 115, 120, 418, 2004.
  21. Song, X.Z., Bi, Z.G., Xu, A.E. Green tea polyphenol epigallocatechin -3-gallate inhibits the expression of nitric oxide synthase and generation of nitric oxide induced by ultraviolet B in HaCaT cells. Chin Med J 119(4):282-287, 2006.
  22. Weller, R. Nitric oxide: a key mediator in cutaneous physiology. Clin Exp Dermatol 28: 511-514, 2003.
  23. Marcheko, N.D., Zaika, A., Moll, U.M. Death signal-induced localization of p53 protein to mitochondria. A potential role in apoptotic signaling. J Biol Chem 275: 16202-16212, 2000.
  24. Chaturvedi, V., Qin, J.Z., Stennett, L., Choubey, D., Nickoloff, B.J. Resistance to UV-induced apoptosis in human keratinocytes during accelerated senescence is associated with functional inactivation of p53. J Cell Physiol 198: 100-109, 2004.
  25. Cui, Y., Kim, D.S., Park, S.H., Yoon, J.A., Kim, S.K., Kwon, S.B., Park, K.C. Involvement of ERK and p38 MAP kinase in AAPH-induced COX-2 expression in HaCaT cells. Chem and Phys of Lipids 129: 43-52, 2004.
  26. Barber, L.A., Spandau, D.F., Rathman, S.C., Murphy, R.C., Johnson, C.A., Kelly, S.W., Hurwitz, S.A., Travers, J.B. Expression of the platelet activating receptor results in enhanced ultraviolet B radiation-induced apoptosis in a human epidermal cell line. J Biol Chem 273: 18891-18897, 1998.
  27. Angel, P., Karin, M. The role of Jun, Fos and the AP-1 complex in cell-proliferation and transformation. Biochim Biophys Acta 1072: 129-157, 1991.
  28. Fisher, G.J., Datta, S., Wang, Z.Q., Li, X.Y., Quan, T., Chung, J.H., Kang, S., Voorhees, J.J. c-Jun-dependent inhibition of cutaneous procollagen transcription following ultraviolet irradiation is reversed by all-trans retinoic acid. J Cret Invest 106: 663-670, 2000.