

## 피부 각질화세포에서 자외선 B 조사로 발현이 유도된 유전자의 검출\*

계명대학교 의과대학 해부학교실, 대구가톨릭대학교 의과대학 해부학교실\*

노진식 · 이인환 · 추영애 · 정수경 · 최인장 · 김홍태<sup>#</sup>

### Analysis of UVB Modulated Gene Expression in Human Keratinocytes\*

Dzin Sik Rho, M.D., In Hwan Lee, M.D., Young Ae Choo, Su Kyoung Jung,  
In Jang Choi, Ph.D., Hong Tae Kim<sup>#</sup>, M.D.

Department of Anatomy, Keimyung University School of Medicine, Taegu, Korea

Department of Anatomy, Catholic University of Taegu School of Medicine, Taegu, Korea<sup>#</sup>

**Abstract :** Ultraviolet light is the most important environmental insult to skin. Even single exposure to UVB irradiation can result in inflammation and may also lead to DNA damage and apoptosis in the acute response of the cutaneous tissue. To elucidate the complex alterations of gene expression in human keratinocytes underlying these UVB responses, ordered differential display polymerase chain reaction (ODD-PCR) technology was performed in one human keratinocyte cell line. Several genes were induced and down-regulated during 12 hours after UVB irradiation in a time-dependent manner. Five UVB-induced cDNA clones were isolated, including cDNAs for karyopherin alpha 2, human mRNA for TI-227H, ribosomal protein L13a and keratin 19. Differential expression of these genes after UVB irradiation has not been reported. Authors identified a new sequence that is negatively regulated by UVB irradiation. In general our results showed that ODD-PCR is a useful tool in the analysis of quantitative changes of mRNA levels in human keratinocytes after UVB irradiation. The identification of new UVB-modulated genes offers the opportunity to identify unrecognized molecular mechanism in response of human cells to UV irradiation

**Key words :** UVB irradiation, Keratinocyte, ODD-PCR, Gene expression

### 서 론

태양광선에 포함된 자외선 A, B 및 C 중 땅 표면에  
도달하는 태양광선의 2% 가량을 점유하고 있는 자외

\* 본 연구는 1999년도 동산의료원 특수과제연구비로 이루어졌음.

선 B (UVB, 280-320 nm)는 오존층을 통과하여 생체의 DNA에 흡수된다. 파장이 짧고 photon이 DNA에 더 많이 흡수되는 자외선 C는 오존층에 의해 지상으로의 투과가 차단되어 있으며, 자외선 B보다 땅 표면에 4-5 배 많이 도달하는 자외선 A는 유전자에 별 영향을 주지 못한다. 따라서 자외선 B는 사람 피부에 영향을 미치는 환경 요소이며, 실제로 피부 염증반응과 면역억제작용 등을 유도하여 홍반(erythema), 색소과침착(hyperpigmentation), 각화증(keratosis), 탄력섬유증(elastosis) 등의 피부병변을 야기할 뿐만 아니라 피부암의 원인이 되기도 한다(Ullrich, 1995). DNA에 도달한 자외선은 pyrimidine 염기 고리에 손상을 주어 유전자의 구조적 변화를 초래하며, 실험실에서는 자외선의 조사량을 조절함으로서 생물학적 반응, 돌연변이, 혹은 세포사망을 유도할 수 있다고 한다(Sutherland *et al.*, 1980). 자외선 B의 조사가 피부각질화세포에 미치는 생물학적 영향으로는 기저세포의 증식을 억제시키거나 역분화를 유도하여 과증식으로 인한 형질전형군집(transforming focus)을 만들기도 하며, 핵형과 세포주기의 변화도 일으킨다(차호 외, 2000). 이런 변화들은 조사된 자외선 B의 량에 따라 생물학적인 반응이 상이하며 유전자의 발현에 영향을 준다고 한다(Eastman & Barry, 1992). 유전자들의 발현은 phorbol ester, TPA 등과 같은 활성화 물질에 의해 유도되는 것으로, 특히 protein kinase C (PKC)가 유전자 활성화에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되어 있다(Berra *et al.*, 1997; Rotenberg & Sun, 1998). 그러나 UVB 조사로 초래되는 세포주기의 변화, 핵형의 변화 및 형질전환으로 이행되는 이 과정에는 복잡하고 많은 물질들이 관여한다(Abts *et al.*, 1997; Poon & Hunter, 1998; Pötter *et al.*, 2000). 자외선 B에 대한 각질화세포의 생물학적 반응들은 노출 시간과 세포의 상태에 따라 다르게 나타날 것으로 생각된다.

이 연구에서는 각질화세포주를 이용하여 자외선 B 조사에 의한 초기 반응(immediate response)으로부터 형질전환에 이르기까지 발현 변화가 유도되는 유전자를 찾기 위해 최근에 DD-PCR (differential display polymerase chain reaction)의 단점을 보완해 새롭게 고안된 ordered differential display polymerase chain reaction (ODD-PCR) (Prashar & Weissman, 1996)을

수행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 사람 각질화세포주

어린아이의 음경꺼풀을 배양하여 얻은 각질화세포를 Ad12-SV40 (adenovirus 12-simian virus 40)으로 감염시켜 만든 각질화세포주인 RHEK1 (Rhim *et al.*, 1985)를 10% FBS (fetal bovine serum)가 든 DMEM-F12 (1:1) 혼합배양액에 10 µg/mL hydrocortisone과 항생제와 항진균제를 1% 되도록 추가하여 배양하였으며 3-4일 간격으로 배지를 교환하였다.

### 2. 자외선 B 조사(irradiation).

세포가 배양접시 바닥에 80-90% 정도로 자라면, 배양액을 제거한 다음 PBS로 씻어 자외선 B를 조사하였다. 자외선 B를 조사하지 않은 RHEK1 각질화세포를 대조군으로 사용하였다. 계명의대 의학유전학연구소에 설치되어 있는 발광파장이 313 nm인 FSX24T12-UVB-HO 전구(National Biological Corporation, USA)를 사용하여 자외선 B를 조사하였다. 조사량은 IL1700 방사계(International Light, USA)를 이용하여 310 nm에서 측정한 후 각 세포에 200 J/m<sup>2</sup>의 양을 한번만 조사하였다. 자외선 B 처리 후 바로 새 배지로 대치하고 배양을 하였다.

### 3. Ordered Differential Display Polymerase Chain Reaction

RHEK1 세포주에서 자외선 B를 조사하지 않은 세포와 자외선 B를 조사한 후 각각 3시간, 6시간, 12시간 동안 배양한 세포들에서 RNAZol B (TEL Test inc, USA)를 이용하여 전체 RNA를 추출하였다. cDNA 합성을 위하여 각각 2 µg의 전체 RNA를 주형으로 사용하였으며, cDNA 합성 키트(Perkin Elmer, USA)와 T-primer를 이용하여 이중가닥 cDNA를 만들었다. 만들어진 cDNA를 RsaI으로 1.5시간 동안 절단한 후에 65 °C

에서 20분간 두어 비활성화시키고 에타놀 침전법으로 얻어진 cDNA 절편들에 adaptor-L, adaptor-S를 가하여 16 °C에서 밤새 접합(ligation)시켰다. 멸균수를 가하여 접합용액을 1:5로 희석한 후 1 μL를 주형으로 하여 OU (adaptor-L의 바깥쪽과 상보적인 서열)와 T primer를 이용하여 PCR 반응을 수행하였다. PCR 증폭을 위하여 변성전에 cDNA의 주형에 접합된 adaptor의 cohesive-end를 채우기 위해 72 °C에서 10분간 반응시킨 후 95 °C에서 30초, 65 °C 30초, 72 °C 1분 30초의 조건으로 20회 PCR 반응을 수행하였다. Subset의 증폭은 12종류의 primer 조합을 이용하였다. T4 polynucleotide kinase를 이용하여 각각의 InExx primer (In primer 끝에 네 가지 염기를 조합하여 확장시킴)들을 37 °C에서 [ $\gamma$ -32P]ATP으로 30분간 표지시킨 후 100 °C에서 1분간 비활성화시켰다. 반응액을 PCR 혼합액와 섞은 후 95 °C에서 12분간 전열을 가하여 95 °C에서 30초, 69 °C 30초, 73 °C 1분 30초의 조건으로 23회 PCR을 수행하여 증폭하였다. 증폭된 절편들은 5% polyacrylamide 겔(Sigma, USA)에서 전기 영동한 후 70 °C에서 건조시키고, X-선 필름에 24시간 노출시켰다. 얻어진 자가방사사진으로부터 특이적으로 증폭된 cDNA 절편들을 건조된 겔에서 오려내어 DNA를 추출하였다. 추출한 DNA를 95 °C에서 3분간 반응시킨 후, 95 °C 30초, 65 °C 30초, 72 °C 1분 30초의 조건으로 20회 PCR 반응을 수행한 후 1% agarose 겔에 전기영동하여 확인하였다. 증폭된 cDNA 절편들을 GeneClean II kit (BIO101, USA)로 agarose 겔 상에서 분리한 후 Pst I으로 37 °C에서 1시간 동안 절단하였다. 에타놀로 침전을 하여 Pst I과 alkaline phosphatase를 처리한 pBlue-script SK(+)와 18 °C에서 밤새 접합 반응을 시킨 후 DH5 $\alpha$ 에 형질전환시켰다. 형질전환체들을 선별하여 크기를 확인한 후 sequenase version 2.0 DNA sequencing kit (USB, USA)을 이용하여 염기서열을 분석하였다. Primer의 염기서열 확인을 통하여 실험을 행한 primer 조합에서 얻어진 clone인가를 확인한 후에 basic local alignment search tool (BLAST)를 통해서 database에 있는 모든 유전정보들을 비교분석하였다.

#### 4. Northern blot hybridization

앞에서 선별한 자외선 B 특이성 유전자가 실제로 자외선 B가 처리되지 않은 각질화세포와 비교해서 특이적으로 발현되는가를 확인하기 위하여 northern blot hybridization을 실시하였다. 자외선 B을 조사한 것과 조사하지 않은 세포들에서 추출한 전체 RNA를 0.66 mol formaldehyde-0.8% agarose 겔에 전기영동하여 hybond N 나일론막(Amersham, UK)에 옮겨 붙인 후 80 °C에서 2시간 동안 처리하여 나일론막에 고정시켰다. 앞에서 분리한 자외선 B 특이성 유전자를 Megaprime DNA 표지시스템(Amersham, UK)을 이용하여 [ $\alpha$ -32P]dCTP로 표지한 다음 northern blot hybridization을 실시하였다. 나일론막은 hybridization 용액에 넣어 42 °C에서 3시간 동안 prehybridization 시킨 다음, 표지된 probe를 첨가하여 42 °C에서 밤새 반응시켰다. 이 후 나일론막은 65 °C에서 2 × SSC로 30분간 두 번 반복하여 세척한 후 0.2 × SSC로 30분간 한 번 세척하여 X-선 필름에 노출시켰다.

#### 5. Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction

ODD-PCR로 세포들에서 발현의 차이를 보이는 DNA 따들을 골라 cloning 한 결과 대부분 200 bp 미만의 짧은 조각들로 northern blot hybridization의 probe로 바로 사용하는 데는 한계가 있었다. 각 clone들의 염기서열과 일치하는 유전자들의 서열에서 PCR primer로 적당한 서열을 결정하고 RT-PCR을 실시하였다. 위와 동일한 방법으로 cDNA를 합성하였으며, PCR은 95 °C에서 10분간 1회 처리하고 95 °C 30초, 각 clone에 적절한 annealing 온도에서 30초, 72 °C에서 40초의 조건으로 30 내지 35 회 반복 후 마지막으로 72 °C에서 5분간 처리하였다.

### 성 적

#### 1. ODD-PCR에 의한 유전자 발현의 비교

사람 각질화세포주인 RHEK1에 200 J/m<sup>2</sup>의 양의 자외선 B를 쬐고 나서 3시간, 6시간, 12시간 지난 세포들에서 발현의 차이를 보이는 유전자를 찾아내기 위해

12종류의 primer조합으로 ODD-PCR을 하고 전기영동한 결과, 다르게 증폭된 여러 개의 cDNA 조각들을 확인할 수 있었다. 이 중 5조각을 잘라내어 재증폭하였다. 증폭된 조각들은 100-200 bp 정도의 길이를 가지고 있었다. 재증폭한 cDNA 조각들을 cloning하고 염기서열을 분석한 다음 BLAST의 유전자 database에서 정보를 분석한 결과 동일한 염기서열을 가지는 유전자들을 찾을 수 있었다(Table 1). 발현의 차이를 보이는 cDNA 조각들을 ODD라는 이름을 부여했으며, 각각

에 해당하는 유전자는 다음과 같다. ODD1은 karyopherin alpha 2 (KPNA2)와 같은 서열을 보였다. ODD2는 TI-227H의 일부분이었으며 사람 mitochondria 유전자의 16S ribosomal RNA와도 98%의 동일성을 보였다. ODD12는 동일한 서열을 나타내는 유전자를 찾을 수 없었다. ODD34는 keratin 19 (KRT19)의 한 부분이었으며, ODD36b는 ribosomal protein L13a (RPL13A)와 동일한 서열을 나타냈다.

**Table 1.** Summary of UVB-modulated differential display clones

Clone	Size (bp)	Homology
ODD1	100	100% to karyopherin alpha 2 (RAG cohort 1, importin alpha 1)(KPNA2)
ODD2	83	100% to human mRNA for TI-227H 98% to human 16S ribosomal RNA, mitochondrial gene
ODD12	131	None
ODD34	193	100% to human keratin 19 (KRT19)
ODD36b	184	99% to human ribosomal protein L13a (RPL13A)

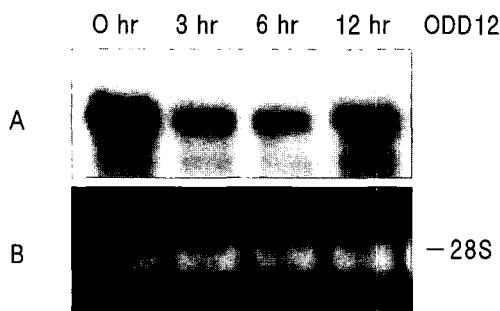
## 2. Northern blot 분석

Cloning한 각각의 ODD cDNA 조각들을 probe로 하여 각 세포들에서 뽑은 전체 RNA를 대상으로 northern blot을 1회나 가능한 경우에는 2회 반복하여 분석하였다. ODD2 와 ODD12를 대상으로 결과에서 발현의 차이를 볼 수 있었다. 각 유전자의 발현정도는 28S RNA의 농도와 비교한 값으로 하였다. ODD2는 자외선 조사 후 3시간에서 발현이 감소하였다가 이 후 증가하였다(Table 2, Fig. 1). ODD12는 자외선 조사 후 3시간과 6시간까지 발현이 감소되다가 12시간에 회복되었다(Table 2, Fig. 2).

0 hr    3 hr    6 hr    12 hr    ODD2



**Fig. 1.** Confirmation of differential expression of ODD2 by northern blot analysis. A: Hybridization of ODD2 to 10 $\mu$ g total RNA from UV-irradiated RHEK1 cells cultivated for different periods of time after irradiation and unirradiated controls. B: Ethidium bromide staining of 28S RNA is shown as loading and integrity control.

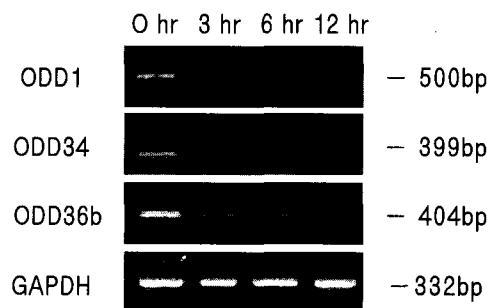


**Fig. 2.** Confirmation of differential expression of ODD12 by northern blot analysis. (A). B: Ethidium bromide staining of 28S RNA

### 3. RT-PCR을 이용한 각 유전자들의 발현 분석

Cloning한 cDNA 조각을 이용한 northern blot 분석 결과 모두 다 좋은 결과를 얻을 수는 없었다. 사용한 조각들의 길이가 짧아서 방사선동위원소 표지의 효과가 떨어지는 원인과 원래 그 발현의 정도가 매우 낮은 상태이기 때문에 생각되었다. 이러한 문제를 해결하고자 각 cDNA 조각들과 동일성을 나타내는 유전자들의 전체 cDNA 상태의 염기서열을 대상으로 primer3 software를 이용하여 각 유전자들마다 적절한 primer를 제작하고 RT-PCR을 2회나 3회 반복하여 실시하였다. 발현정도는 GAPDH의 RT-PCR의 결과를 기준으로 상대적인 농도로 계산하였다. ODD1에 해당하는 KPNA2는 자외선 B 조사 후 계속적으로 감소하였다 (Table 2, Fig. 3). KRT19(ODD34)는 자외선 B에 노출

된 후에 점차 그 발현이 감소하는 양상을 보였다 (Table 2, Fig. 3). ODD36b에 해당하는 RPL13A는 자외선을 찍고 난 다음 첫 3시간 동안은 증가하다가 발현이 서서히 감소하였다 (Table 2, Fig. 3).



**Fig. 3.** RT-PCR amplification of ODD1, ODD34 and ODD36b in RHEK1 at different time Points after UVB irradiation. Amplification of a GAPDH specific fragment served as interal control.

### 고 찰

장기적이고 반복적인 자외선에 노출은 기저세포암과 편평상피세포암의 가장 중요한 원인으로 인식되고 있다(Zigler *et al.*, 1993; Sato *et al.*, 1997). 피부암의 대부분이 자외선 B의 영향으로 발생하지만 뚜렷한 분자 생물학적 기전은 밝혀진 바 없으며, 이러한 기전을 밝

**Table 2.** Densitometric analysis of northern blot or RT-PCR analysis with differential display clones

Clone	Relative density (mean $\pm$ SD)			
	Time after UVB irradiation			
	0 hr	3 hr	6 hr	12 hr
ODD1	1.00	0.76 $\pm$ 0.22	0.52 $\pm$ 0.14	0.25 $\pm$ 0.01
ODD2 *	1.00	0.48	1.16	1.07
ODD12	1.00	0.26 $\pm$ 0.08	0.39 $\pm$ 0.04	1.25 $\pm$ 0.22
ODD34	1.00	0.71 $\pm$ 0.19	0.67 $\pm$ 0.17	0.42 $\pm$ 0.14
ODD36b	1.00	1.13 $\pm$ 0.07	0.93 $\pm$ 0.21	0.81 $\pm$ 0.27

\* The result of an experiment.

하고자 하는 노력들은 주로 기존에 알려진 유전자들을 대상으로 하였다. 최근에는 자외선에 반응하는 여러 유전자들을 동시에 찾기 위해 DD-PCR을 이용한 연구들이 이루어지고 있으며, 그 결과로 사람 각질화 세포에서 자외선 B에 의해 HUR7 (Abts *et al.*, 1997), hurpin (Abts *et al.*, 1999), topoisomerase-II $\beta$ -binding protein 1, XPO1 (Pötter *et al.*, 2000) 등은 발현이 감소되는 것 이 보고되었다.

RHEK1은 영구적인 사람 각질화 세포주이지만 nude mouse에서는 암을 유발하지 못하며, 한 층으로만 자라는 특징을 가지고 있다. 이 세포주에 반복적으로 자외선을 조사하면 배양접시 바닥에 부착되지 않아도 증식하는(anchorage-independent) 성장의 특징을 보이며, 대체적으로 자외선 B에 대해 민감한 편으로 자외선에 노출되면 초기에 많은 수의 세포들이 apoptosis에 들어가며, 전체적으로는 S기가 길어지는 세포주기의 변화가 야기된다(차호 외, 2000). 이러한 세포들의 특징을 유도하는 유전자들은 어떤 것인가를 알아보고자 ODD-PCR을 시행하여 의미있게 작용하는 유전자들을 찾았다.

ODD1은 karyopherin  $\alpha 2$  (1976 bp)의 3'-말단부위와 동일한 염기서열을 보였다. Karyopherin  $\alpha 2$ 는 importin  $\alpha 1$ , recombination activating protein1 (RAG1), Rch1로 지칭되는 유전자로서 세포질에 있는 단백질을 핵 안으로 운반하는 작용을 하는 유전자이며, BRCA1 (Chen *et al.*, 1996), EBNA1 (Fischer *et al.*, 1997), p53 (Kim *et al.*, 2000) 등의 핵 내로 이동에 관여한다. 특히 많은 수의 유방암에서 wild type의 BRCA1과 p53이 세포질에 위치함으로 이들 유전자들의 고유한 기능을 하지 못하게 되는 것이 관찰되었으며, 이런 현상은 이들 유전자들을 핵 안으로 옮겨 주는 장치에 이상이 생기거나 karyopherin의 감소에 의한 것으로 생각되었다. 이 연구에서 자외선에 노출된 후 RHEK1에서 자외선에 노출된 초기에 발현의 감소가 뚜렷하게 나타나고 있어 이 세포의 자외선에 대한 초기 반응의 특징인 apoptosis 현상과 세포주기의 변화와 연관이 있을 것으로 생각되며, 이 유전자는 자외선에 대한 초기 반응에 중요한 역할을 수행하리라 추측된다.

ODD2와 동일한 염기서열을 나타내는 TI-227H는 B16 murine melanoma cell line의 여러 subline 중에서

강한 전이성을 보이는 subline에서 발현이 증가된 유전자들 중 하나에 대해 동질성을 나타내는 사람유전자이다(Ishiguro *et al.*, 1996). 이 유전자의 발현양상이 자외선에 민감한 RHEK1에서 감소하고 있어 이 유전자는 각질화세포의 자외선 B에 대한 초기의 반응 즉 apoptosis로 가는 과정을 억제할 가능성이 있으리라 생각된다.

ODD12는 아직까지 기능을 나타내는 유전자로 밝혀져 있지 않은 것으로 되어 있지만 각질화세포의 자외선 B에 대한 초기반응에는 상당히 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다. 자외선 B에 노출이 되지 않은 상태에서 높은 수준으로 발현되다가 자외선 B에 노출된 후에는 급격히 감소하였다가 곧 회복되는 것으로 보아 이것은 세포의 생존에 중요한 역할을 하는 유전자로 생각된다.

ODD34는 keratin 19로 type I intermediate filament 들 중의 하나이며, 피부의 표피세포 중에서 바닥층의 일부에서만 발현되며, 피부 뿐만 아니라 biochemical marker로 알려져 있지만 다른 keratin들에 비해 상대적으로 역할이 잘 밝혀져 있지 않다(Michel *et al.*, 1996; Fradette *et al.*, 1998). 자외선 B를 조사한 다음 keratin 19의 발현은 RHEK1에서 서서히 감소하는 양상을 보였다. 이 결과에 따르면 keratin 19는 피부세포의 자외선 B에 대한 반응에 관여하는 것을 알 수 있었으며, 이것은 keratin 19의 지금까지 알려지지 않은 새로운 기능에 대한 보고가 될 것이다.

Ribosome을 구성하는 ribosomal protein은 약 80 종류 정도 있으며 이들은 생체의 단백질 합성에 중요한 역할을 하고 있다. 최근의 보고들에 의하면 이들 각각은 단백질 합성과는 별개로 서로 다른 세포 안에서 다른 기능을 가지는 것으로 밝혀지고 있다(Henry *et al.*, 1993). 실제로 많은 수의 ribosomal protein들이 세포의 증식이나 사망을 조절하는데 관여하는 것으로 알려져 있는데 그 중 하나인 RPL13A는 세포주기에 영향을 주어 apoptosis를 유도한다(Chen & Ioannou, 1999; Higa *et al.*, 1999). 이 연구에서도 ODD-PCR을 통해 RPL13A와 동일한 ODD36b를 분리했으며, RT-PCR의 결과에서 자외선에 노출된 후 발현의 변화를 보이고 있어 apoptosis를 유도하는데 관여할 것으로 생각되었다.

여러 논문의 고찰과 이번 연구를 통해 각질화세포는 자외선에 민감하게 반응하며 여기에는 여러 유전자가 관여한다는 것을 알 수 있었으며, 이들 유전자들은 세포의 apoptosis나 형질전환에 적·간접적으로 관여할 것으로 추측되었다. 특히 이번에 ODD-PCR을 통해 찾아낸 유전자들은 지금까지 그 기능이 명확하게 밝혀져 있지 않은 것이 대부분이어서 이 유전자들의 기능을 규명한다면, 향후 자외선에 의한 피부병변의 분자생물학적 기전을 밝히는데 도움이 될 것으로 생각한다.

## 요 약

자외선 B 조사에 의한 초기 반응(immediate response)으로부터 형질전환에 이르기까지 발현 변화가 유도되는 유전자를 찾아 이들이 기존의 알려진 암 유전자 혹은 세포주기 관련 유전자와의 상관관계를 규명하고자 하였다. 사람 각질화세포주인 RHEK-1에 반복적인 자외선 B를 조사하여 각질화세포의 자외선 B에 대한 유전자 수준에서 반응의 차이를 알아보기 위해 세포를  $200 \text{ J/m}^2$  양으로 한 번 조사한 후 새 배지로 대치하여 3시간, 6시간, 12시간 지난 후 각각의 세포를 모아 RNA를 추출하고, ordered differential display polymerase chain reaction을 이용하여 각 세포에서 발현의 차이를 보이는 총 5개의 cDNA clone을 얻었다. 각각은 karyopherin alpha 2, human mRNA for TI-227H, ribosomal protein L13a 및 keratin 19 이었으며 다른 유전자들과 동질성을 보이지 않는 유전자 절편도 1개 있었다. 각 유전자들에 대한 northern hybridization과 RT-PCR 결과 각질화 세포에서 자외선 B 처리 후 경과시간에 따라 발현의 차이를 보였다. 결론적으로 이들 유전자들이 각질화세포가 자외선에 반응하는데도 중요한 역할을 한다고 할 수 있으며, 이 연구의 결과는 향후 자외선에 의한 피부 병변의 분자생물학적인 기전을 밝히는데 도움이 될 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

차호, 송인환, 추영애, 박숙경, 이인환: 사람 피부각질세

포에서 자외선 B조사로 유도된 핵형 및 세포주기 변화. *대한해부학회지* 2000; **33**: 201-207.

- Abts HF, Breuhahn K, Michel G, Kohrer K, Esser P, Ruzicka T: Analysis of UVB-modulated gene expression in human keratinocytes by mRNA differential display polymerase chain reaction. *Photochem Photobiol* 1997; **66**: 363-367.
- Abts HF, Welss T, Mirmohamadsadegh A, Khrer K, Michel G, Ruzicka T: Cloning and characterization of hurpin (protease inhibitor 13): a new skinspecific, UV-repressible serine proteinase inhibitor of the ovalbumin serpin family. *J Mol Biol* 1999; **293**: 29-39.
- Berra E, Municio MM, Sanz LFS, Diax-Meco MT, Moscat J: Positioning atypical protein kinase C isoforms in the UV-induced apoptotic signaling cascade. *Mol Cell Biol* 1997; **17**: 4346-4354.
- Chen CF, Li S, Chen Y, Chen PL, Sharp D, Lee WH: The nuclear localization sequences of the BRCA1 protein interact with the importin-alpha subunit of the nuclear transport signal receptor. *J Biol Chem* 1996; **271**: 32863-32868.
- Chen FW, Ioannou YA: Ribosomal proteins in cell proliferation and apoptosis. *Int Rev Immunol* 1999; **18**: 429-448.
- Eastman A, Barry MA: The origin of DNA breaks: a consequence of DNA damage, repair, or apoptosis. *Cancer Invest* 1992; **10**: 229-231.
- Fischer N, Kremmer E, Lautscham G, Mueller-Lantzsch N, Grasser FA: Epstein-Barr virus nuclear antigen 1 forms a complex with the nuclear transporter karyopherin alpha 2. *J Biol Chem* 1997; **272**: 3999-4005.
- Fradette J, Germain L, Seshaiah P, Coulombe PA: The type I keratin 19 possesses distinct and context-dependent assembly properties. *J Biol Chem* 1998; **273**: 35176-35184.
- Henry JL, Coggin DL, King CR: High-level expression of the ribosomal protein L19 in human breast tumors that overexpress erb B-2. *Cancer* 1993; **53**: 1403-1408.
- Higa S, Yoshihama M, Tanaka T, Kenmochi N: Gene organization and sequence of the region containing

- the ribosomal protein genes RPL13A and RPS11 in the human genome and conserved features in the mouse genome. *Gene* 1999; **240**: 371-377.
- Ishiguro T, Nakajima M, Naito M, Muto T, Tsuruo T: Identification of genes differentially expressed in B16 murine melanoma sublines with different metastatic potentials. *Cancer Res* 1996; **56**: 875-879.
- Kim IS, Kim DH, Han SM, et al.: Truncated form of importin identified in breast cancer cell inhibits nuclear import of p53. *J Biol Chem* 2000; **275**: 23139-23145.
- Michel M, Torok N, Godbout MJ, et al.: Keratin 19 as a biochemical marker of skin stem cells in vivo and in vitro: keratin 19 expressing cells are differentially localized in function of anatomic sites, and their number varies with donor age and culture stage. *J Cell Sci* 1996; **109**: 1017-1028.
- Poon RYC, Hunter T: Expression of a novel form of p21<sup>Cip1/Waf1</sup> in UV-irradiated and transformed cells. *Oncogene* 1998; **16**: 1333-1343.
- Pötter T, Göhde W, Wedemeyer N, Kohnlein W: Keratinocytes exposed to ultraviolet radiation three down-regulated genes with potential functions in differentiation and cell cycle control. *Radiation Res* 2000; **154**: 151-158.
- Prashar Y, Weissman SM: Analysis of differential gene expression by display of 3' end restriction fragments of cDNAs. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; **93**: 659-663.
- Rhim JS, Jay G, Arnstein P, Price FM, Sanford KK, Aaronson SA: Neoplastic transformation of human epidermal keratinocytes by Ad12-SV40 and Kirsten sarcoma viruses. *Science* 1985; **227**: 1250-1252.
- Rotenberg SA, Sun XG: Photoinduced inactivation of protein kinase C by dequalinium identifies the RACK-1-binding domain as a recognition. *Int J Radiat Biol* 1998; **65**: 27-33.
- Sato H, Suzuki JS, Tanaka M: Gene expression in skin tumors induced in hairless mice by chronic exposure to ultraviolet B irradiation. *Photochem Photobiol* 1997; **65**: 908-914.
- Sutherland BM, Cimino JS, Delihas N, Shih AG, Oliver RP: Ultraviolet light-induced transformation of human cells to anchorage-independent growth. *Cancer Res* 1980; **40**: 1934-1939.
- Ullrich SE: Cutaneous biologic responses to ultraviolet radiation. *Curr Opin Dermatol* 1995; **2**: 225-230.
- Zigler A, Leffell D, Kunala S: Mutation hotspots due to sunlight in the p53 gene of non-melanoma skin cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; **90**: 4216-4220.