

장기간 및 고용량의 전신 스테로이드 투여가 hairless mice의 피부장벽에 미치는 영향

연세대학교 원주의과대학 피부과학교실, 연세대학교 의과대학 피부과학교실¹

이진욱 · 박하나 · 안성구 · 최응호 · 이승현¹

=Abstract=

The Effect of High Dose Systemic Steroid and its Long-term Usage on the Skin Barrier of Hairless Mice

Jin Wook Lee, M.D., Hana Bak, M.D., Sung Ku Ahn, M.D, Eung Ho Choi, M.D., Seung Hun Lee, M.D.¹.

Department of Dermatology, Yonsei University Wonju College of Medicine, Wonju, Korea,

Department of Dermatology, Yonsei University College of Medicine¹, Seoul, Korea

Background: Prolonged exposure of topical and systemic corticosteroid to skin can result in well-recognized cutaneous abnormalities including cutaneous atrophy, easy bruising, increased skin fragility, and increased risk of infection. Skin barrier impairment is also reported as a steroid-induced side effect. A major function of the skin is the formation of a permeability barrier between the external milieu and the organism. Recent studies have shown that chronic corticosteroid negatively impacts epidermal barrier function. As well as this topical corticosteroid not only has antiproliferative actions but also inhibits the differentiation of the epidermis, resulting in structural defects in the epidermis.

Object: We wanted to determine whether high dose systemic steroid injection would display adverse effects, specifically on; epidermal functions, permeability barrier homeostasis and stratum corneum integrity and cohesion. The basis for such changes was also to be determined.

Material and Methods: Systemic steroid was administered by injecting each hairless mouse, 8-10 week of age, intraperitoneally with 0.3 mg triamcinolone acetonide, two times per week for five weeks. For the controlled hairless mice, 0.9% normal saline was administered by the same method of injection. Every week, transepidermal water loss (TEWL) was checked and skin biopsies were taken. Skin specimens were prepared for electron microscopy using both 0.25% ruthenium tetroxide and 4% osmium tetroxide postfixation. For light microscopy staining hematoxylin-eosin and ion capture cytochemistry was used.

Results: The results were as follows :

- From about 1 week onwards, high dose systemic steroid usage produced visible cutaneous changes and significantly increased the TEWL in the group of 0.3 mg triamcinolone acetate injected hairless mice compared with the control.
- Light microscopic observations of the steroid-injected hairless mice showed gradual thinning of

〈접수: 2003년 11월 25일〉

이 논문은 2002년도 연세대학교 학술연구비의 지원에 의하여 이 루어진 것임.

교신저자: 안성구

주소: 220-701 강원도 원주시 일산동 162

연세대학교 원주의과대학 피부과학교실

전화: 033)741-0621 Fax: 033)748-2650

E-mail: ahnsk@wonju.yonsei.ac.kr

서 론

피부는 외부의 환경과 항상 접하고 있는 기관으로서 주된 기능은 보호장벽, 체온조절, 감각, 분비와 배설, 흡수, 영양소 저장, 비타민 D 형성 등이 있다. 특히 피부의 가장 바깥층에 위치하며 장벽역할의 기능을 담당하는 각

the epidermis from about 2 weeks onwards, compared with the control. Loss of stratum corneum was also observed in the steroid injected hairless mice.

3. The ruthenium tetroxide staining of high dose systemic steroid treated specimens revealed that the lipid bilayer was impaired and fragmented from about 3 weeks. Intercellular spaces were widened and the lipid bilayer either disappeared or showed damage when compared with the control.

4. From about 3 weeks onwards, electron microscopic studies revealed, not only a marked decrease in the number of lamellar bodies, but also an abnormal transformation of lamellar bodies in the steroid injected hairless mice compared with the control.

5. Throughout the five weeks, the calcium gradient gradually disappeared in the 0.3 mg triamcinolone injected hairless mice compared with the control. Consequently, high dose systemic steroid use results in barrier dysfunction and morphological abnormalities.

(Korean J Dermatol 2004;42(3):281~289)

Key Words: Systemic steroid, High-dose, Barrier impairment

질층은 단백질로 이루어진 각질세포와 소수성 지질이 풍부한 각질세포간 지질로 구성되어 있다. 각질세포의 캐라틴은 피부의 구조적 안정성과 탄력성을 제공한다. 충상구조의 지질은 세라미드, 콜레스테롤, 지방산을 함유하며 서로 직선상의 구조를 가짐으로서 장벽역할을 담당한다. 각질세포간 지질을 구성하는 세라미드, 콜레스테롤, 지방산은 충판소체의 분비에 의해 형성된다¹. 충판소체의 분비는 표피로부터 지질합성이 증가함으로써 유지되고 새로 보충되며^{2,3}, 이러한 표피층의 지질생성은 피부장벽의 항상성 유지에 중요한 역할을 담당하게 된다.

장기간 스테로이드를 사용하면 피부에 다양한 부작용이 발생한다. 예로서 피부위축, 여드름양 발진, 혈관확장, 모낭염, 절종, 용종, 다모증, 구주위염, 주사, 위축선조, 잠행성 진균증 등이 나타나며 피부가 취약해지고 이차 세균감염의 위험이 높아진다. 피부의 기능 중에 중요한 것으로 장벽의 기능이 있으나 장기간 스테로이드를 사용할 경우 피부장벽기능 이상을 초래한다고 알려져 있다.

피부장벽에 대한 스테로이드의 영향에 관하여 다수의 보고가 있다. 그러나 대부분 스테로이드 국소도포에 의한 영향에 대한 연구였으며, 전신적인 스테로이드 주사에 대한 연구는 소수의 연구자들에 의해 보고되었다. 전신적인 스테로이드 투여에 대한 연구의 경우 2~3일 정도의 단기간동안 전신 스테로이드를 사용한 후 피부에 미치는 영향에 대한 실험이었다. 이에 저자들은 고용량의 스테로이드를 장기간 전신투여한 후 hairless mice의 피부장벽에 어떠한 변화가 나타나는지 알아보고자 본 실험을 시행하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

생후 8~12주의 암컷 hairless mice (Hr/Hr)을 사용하였으

며 동일한 표준사료로 사육한 후 실험하였다. 암컷 hairless mice의 평균 몸무게는 25 g 이었다.

2. 실험방법

Hairless mice를 무작위로 두 개의 그룹[실험군(n=15), 대조군(n=10)]으로 구분하였다. 실험군은 triamcinolone 0.3 mg (12 mg/kg)을 복강내 주사하였고 대조군은 0.9% 생리식 염수를 주입하였다. 각각 일주일에 2회 주사하였으며 총 5주간 시행하였다. 매주 육안적인 피부변화 및 경표피수 분손실(TEWL)을 측정하고 피부 조직검사를 시행하였다.

1) 경표피수분손실의 측정

TEWL은 실험군과 대조군의 hairless mice에 4% chloral hydrate를 복강내 주사하여 마취한 후에 측정하였다. TEWL 측정은 Tewameter TM 210 (Courage Khazaka, Germany)을 이용하였으며, 측정시 실내온도는 24°C, 실내습도는 40~50%인 동일한 환경에서 시행하였다.

2) 조직검사

TEWL 측정 후에 조직검사를 시행하였으며 실험군과 대조군의 hairless mice에서 각각 4가지의 생검조직을 채취하였다. 첫 번째 생검조직은 hematoxylin-eosin 염색(H&E 염색)을 위해 10% formalin 용액에 고정하였고 다른 3개의 조직은 전자현미경 관찰(OsO₄, RuO₄, Calcium-capture cytochemistry)을 위해 고정하였다.

3) 광학현미경 검사

10% formalin 용액에 고정한 후 paraffin으로 embedding 한 조직은 5 μm 두께로 잘라 H&E 염색을 시행하였고, 광학현미경으로 실험군과 대조군의 피부의 두께, 표피 및 각질층의 변화 등을 관찰하였다.



Fig. 1. Photograph of the hairless mice injecting with 0.9% normal saline (Left) and with 0.3 mg triamcinolone acetonide (Right), for 5 weeks. High dose systemic steroid produce visible cutaneous changes including skin atrophy and telangiectasia.

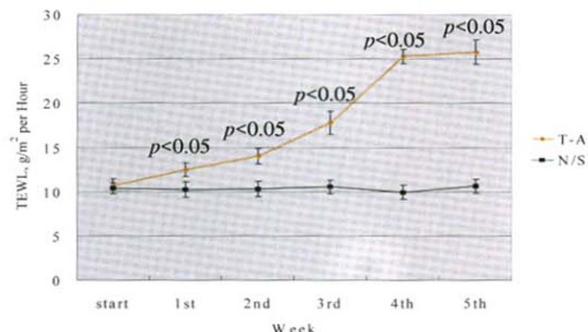


Fig. 2. Changes in transepidermal water loss (TEWL) for 5 weeks, of 0.3mg triamcinolone acetate and 0.9% normal saline ($p<0.05$). Triamcinolone (T-A), normal saline (N/S). Disruption of the epidermal barrier was reflected by an increase in the TEWL in 0.3 mg triamcinolone acetate injected hairless mice compared with the control. In agreement with the decrease in the stratum corneum (SC) layers and SC lipid contents, the TEWL demonstrated a significant increase in 0.3 mg triamcinolone acetate injected hairless mice compared with the control.

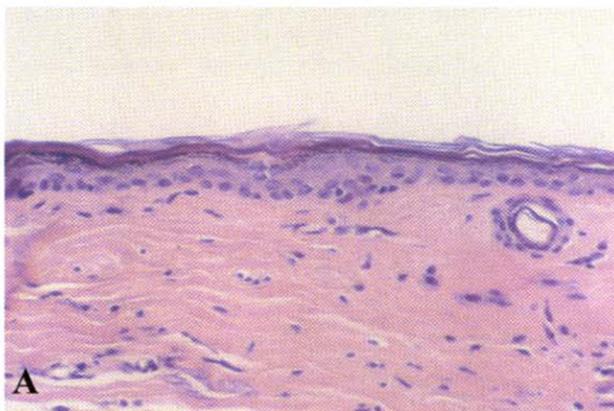


Fig. 3. Light microscopic observations of the epidermis after injection, for 5 weeks, twice per week, of 0.9% normal saline (A) and 0.3 mg triamcinolone acetonide (B). Steroid-induced atrophic skin showed obvious thinning of the epidermis, compared with the control. Loss of stratum corneum was also observed in the steroid injected hairless mouse.

4) 전자현미경 검사

① OsO₄ 및 RuO₄ 후고정법

조직생검후 1 mm 두께로 표본을 절단하여 2% glutaraldehyde, 2% paraformaldehyde, 0.06% calcium chloride, 0.1 M sodium cacodylate buffer (pH=7.4)로 조성된 modified Karnovsky 용액에 고정하였다. 고정된 조직은 실온에서 1시간 방치후 4°C 냉장고에서 overnight 시켰다. Modified karnovsky용액을 제거한후 0.1 M cacodylate buffer로 40분

씩 3회 세척한 다음 OsO₄ 후고정을 위해서는 1% OsO₄, 0.1 M cacodylate buffer 용액에, RuO₄ 후고정을 위해서는 0.25% RuO₄ 0.1 M cacodylate buffer 용액에 빛을 차단한 상태로 실온에서 45분간 시행하였다. 후고정후 0.1 M cacodylate buffer 용액에 10분간 1회 세척후 50% ethanol로 5분씩 2회, 70%와 95% ethanol로 각 10분씩 2회, 100% ethanol로 각 20분씩 4회 탈수하였다. 탈수후 100% propylene oxide로 15분간(2회) 조직을 침투시키고 통상적인 방법으로 만든 Epon을 이용하여 24시간동안 70°C

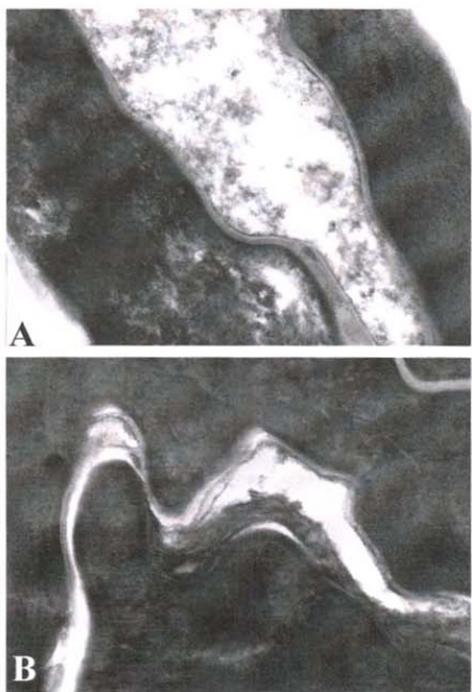


Fig. 4. Electron micrographs of intercellular lipid layers of the stratum corneum after injection, for 5 weeks, twice per week, of 0.9% normal saline (A) and 0.3 mg triamcinolone acetonide (B). High dose systemic steroid treated specimen revealed that the lipid bilayer was impaired and fragmented. Intercellular spaces were widening and the lipid bilayer disappeared or was damaged ($\text{RuO}_4 \times 100,000$).

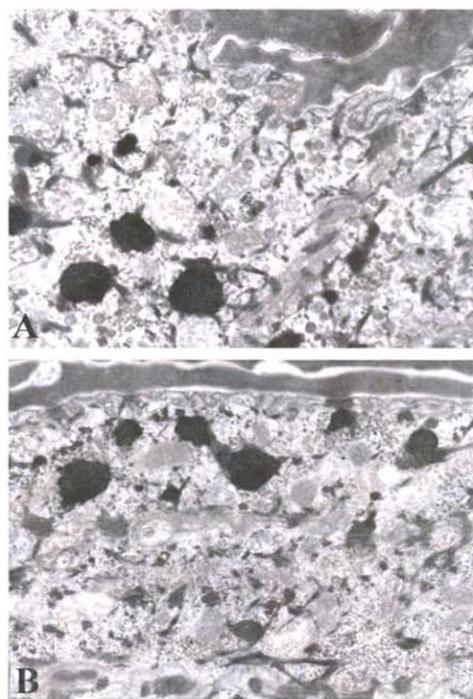


Fig. 5. Electron micrographs of the stratum granulosum showing lamellar bodies after injection, for 5 weeks, twice per week, of 0.9% normal saline (A) and 0.3 mg triamcinolone acetonide (B). Decrease lamellar bodies were observed in 0.3 mg triamcinolone acetonide treated epidermis (OsO_4 postfixation, $\times 20,000$).

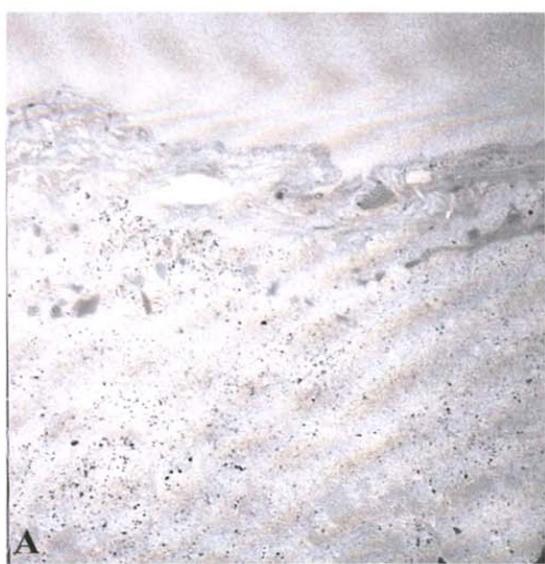
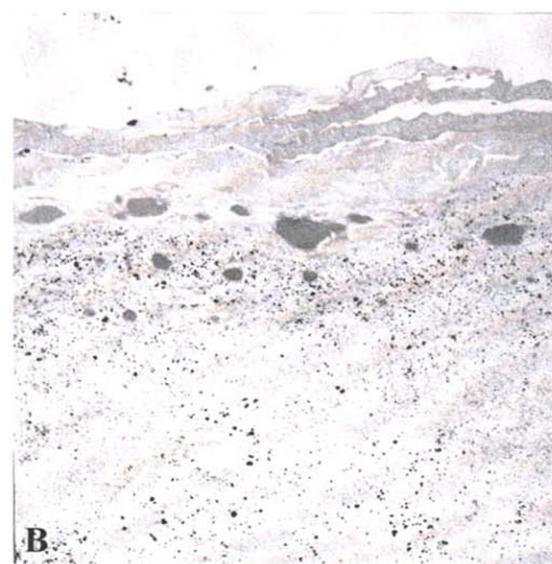


Fig. 6. Visualization of calcium gradient by calcium-capture cytochemistry. (A) Normal, control epidermis. Note progressive increase in number of precipitates in stratum granulosum. Density of precipitates is far less in stratum spinosum. (B) For 5 weeks, twice per week, 0.3 mg tiramcinolone acetonide injected epidermis. Calcium gradient is disappeared. (C) Calcium-capture cytochemistry $\times 5,000$.



incubator에서 resin을 하였다. 세절편후 통상적인 uranyl acetate와 lead acetate로 염색하여 투과전자 현미경(JEM-1200EX, Japan)으로 관찰하였다.

② Calcium-capture cytochemistry

조직을 얻은 즉시 고정액에 담구어 4°C 냉장고에 보관하였다가(고정액 : 2% glutaraldehyde, 2% formaldehyde, 90mM potassium oxalate, 1.4% sucrose), 2시간 이후에 조직을 세절한 다음 얼음조각 위에서 하룻밤동안 냉장고에 고정 시켰다. 이후 1 kml OsO₄ (4%) 와 3 kml potassium pyroammonium stock 용액(2%)이 혼합된 후 고정액으로 2시간동안 얼음 위에 방치하였다. 냉증류수(pH=10)에 10분간 세수한 다음 통상적인 방법으로 탈수 및 포매를 실시하였다.

3. 통계적 유의성 검정

통계처리는 SPSS/PC를 사용하였고 분석방법은 student's t 검정을 실시하였다. 유의수준은 0.05 이하로 설정하였다.

결 과

1. 피부의 육안적 관찰(Fig. 1) 및 TEWL의 변화(Fig. 2)

고용량의 전신 스테로이드의 사용은 hairless mice의 피부의 뚜렷한 변화를 유발하였다. 몸무게의 감소 뿐 아니라 피부위축 소견을 관찰할 수 있었으며 모세혈관 확장 소견이 나타났다. 대조군에 비하여 실험군은 초기부터 실험 5주째 까지 점차적으로 TEWL이 증가하였고 이러한 TEWL의 증가는 실험 1주째부터 의미있게 증가하였다 ($p<0.05$).

2. 병리조직학적 소견(Fig. 3a,3b)

정상적인 hairless mice의 피부조직의 각질층의 층수는 2~3층 정도(평균 2.5)이었고 과립층은 1층 정도(평균 1), 극세포층은 1~2층 정도(평균 1.2)이었다. 그러나 고용량의 스테로이드를 사용한 실험군은 표피의 두께가 점차적으로 감소하는 양상을 나타내었다. 이러한 표피두께의 감소는 고용량의 스테로이드 투여 2주 정도부터 조금씩 나타나기 시작하였다. 실험 5주째의 표피는 거의 한층 정도였으며, 각질층은 거의 소실되거나 분절된 양상을 보였다.

3. 표피지질의 변화(Fig. 4A,4B)

전자현미경으로 관찰한 RuO₄ 염색 소견상 실험군에서 지질 이중막 단락과 분절 및 세포간격의 확장소견이 약 3주경부터 나타났으며 이러한 소견은 실험 5주째 가장 현저하였다.

4. 층판소체의 생성과 분비(Fig. 5A,5B)

전자현미경 소견상 실험군에서 층판소체의 수가 감소하였다. 이러한 소견은 실험 3주 정도부터 시작하여 실험 5주째에 가장 현저하게 관찰되었다. 또한 과립층의 세포질 안에서 관찰되는 층판소체는 비정상적으로 변형된 형태로 나타났다. 이러한 전반적인 층판소체의 감소와 변화는 과립층과 각질층 사이로 분비되는 층판소체의 양이 감소되는 것과도 관련이 있었다.

5. 칼슘이온 기울기(calciun gradient)의 소실(Fig. 6A,6B)

정상적인 hairless mice의 피부에는 칼슘이온의 기울기가 존재한다. 기저층에서 칼슘이온 농도는 가장 낮고 점차적으로 증가하여 과립층에서의 칼슘이온 농도는 가장 높은 양상을 나타낸다. 그러나 고용량의 스테로이드를 사용한 실험군에서는 칼슘이온 기울기가 실험 1주째부터 점차 소실되었으며 실험 5주째에는 현저한 칼슘이온 기울기의 소실과 함께 전반적으로 표피 전층의 칼슘이온 농도가 감소되는 소견을 나타내었다.

고 칠

1950년대 초반에 개발된 국소 도포용 스테로이드제는 피부 질환의 치료에 있어 획기적인 발전을 초래하였다. 그러나 10년 정도 후에 심각하고 다양한 부작용이 발생한다는 사실이 밝혀졌다. 장기간 스테로이드를 사용할 경우 앞서 기술한 여러 가지 부작용이 나타나는 것은 잘 알려져 있다.

당질코티코이드(glucocorticoid)는 부신 피질에서 합성되며 콜레스테롤로부터 만들어진다. 당질코티코이드는 탄수화물, 단백질, 지질 및 핵산 대사에 영향을 주며 순환계, 신장, 림프계, 신경계 및 골격근에 작용한다. 또한 여러 가지의 유해한 자극과 주위 환경 변화에 대응하는 등 생체의 항상성 유지에 중요한 역할을 하며 다른 호르몬의 작용에 영향을 미치고 항염증 작용과 면역 억제 작용도 있다. 방사성, 기계적, 화학적, 감염성 및 면역 자극을 포함한 여러 가지 염증 반응을 억제 혹은 예방한다. 그러나 원인 질병과는 상관없이 염증 증상만 호전시키므로 때로는 원인 질병이 악화되어 진단 및 치료에 혼돈을 초래하는 경우도 있다. 또한 당질코티코이드는 면역반응으로 일어나는 질병 치료에 중요한 역할을 하며 백혈구의 기능을 억제하고 혈관 활성 및 화학주성인자의 유리를 감소시킨다. 상처 부위에 백혈구의 이동을 감소시켜 궁극적으로 섬유증이 억제되고 interferon gamma (IFN-γ), GM-CSF,

interleukin 및 tumor necrosis factor (TNF- α) 등을 포함한 사이토카인 생성에 관여하며 억제 작용을 나타낸다.

당질코티코이드가 지질 생성에 미치는 영향은 조직에 따라 다소 차이가 있다. 간에서 당질코티코이드는 지방산과 콜레스테롤 수치를 증가시키는 반면 간을 제외한 조직의 경우 지질 생성을 억제한다. 즉 피하 지방조직에서 당질코티코이드는 지방산 생성을 억제하므로 장기간 스테로이드 주사시 지방위축증을 유발시킬 수 있다.

Rat에서 출생전에 당질코티코이드를 투여할 경우에 피부장벽 형성을 촉진시키지만 출생후에는 촉진시키지 않는다. 한편 에스트로겐과 갑상선호르몬은 피부장벽 형성을 촉진시키지만 테스토스테론은 저연시키는 효과가 있다^{4,6}.

지속적 혹은 전신적인 스테로이드를 사용하였을 경우 표피의 구조와 기능에 미치는 영향에 대한 다수의 연구결과들이 보고된 바 있다. 지속적으로 스테로이드를 사용할 경우 각질세포의 증식이 억제되어 표피의 위축소견이 나타난다고 하였다⁷⁻¹¹. Sheu 등¹²은 오랫동안 국소 스테로이드를 도포한 환자들을 대상으로 연구한 결과 표피 분화 이상이 나타남을 보고하였으며 결과적으로 케라토히알린 과립 형성이 저하되고 표피 분화 시에 나타나는 다양한 단백질 표식의 발현이 감소한다고 하였다. Sheu 등¹³은 또한 광학현미경 소견, 전자현미경 소견, 지질특수염색 등을 통하여 지속적인 국소 스테로이드 도포 후에 발생한 피부의 구조적인 이상을 관찰하였으며, TEWL의 증가가 표피의 투과장벽기능의 이상과 연관이 있음을 보고하였다. 스테로이드의 장기적인 도포는 각질층의 두께 감소, 각질층의 세포간 지질 감소, 과립층의 충판소체 숫자의 감소를 유발하며 TEWL의 증가 및 장벽기능의 손상을 초래한다¹⁴. 한편 Kao 등¹⁵은 hairless mice에 3일간 강력한 국소 스테로이드 제재를 도포한 후에 나타나는 장벽손상을 관찰하고 이를 보고하였다. 즉 TEWL 회복률 감소, 충판소체의 생성과 분비감소, 지질(세라미드, 콜레스테롤, 지방산) 생성 감소, 교소체 감소 및 각질층의 결합력 약화를 동반한다고 하였다. 그러나 이러한 현상은 외부적으로 지질을 침가하면 피부장벽의 회복현상을 나타낸다고 하였다.

이와 같이 스테로이드가 피부에 미치는 영향에 대한 연구결과들은 많이 보고되었다. 그러나 세포배양에 의한 결과 혹은 국소 스테로이드를 도포할 경우에 나타나는 부작용들에 대한 연구가 대부분 이었고 전신 투여의 경우도 3~4일 정도의 짧은 기간동안 투여하였을 경우 나타난 변화를 관찰한 실험이었다⁷⁻¹⁵.

이에 연구자들은 5주간 매주 2회씩 한번에 12 mg/kg의 triamcinolone을 hairless mice에 복강내 주사하였고 이때 나타나는 피부 변화, TEWL의 변화 및 조직병리와 전자현미경 소견을 관찰함으로써 장기간 동안에 고농도 스테

로이드를 전신투여할 경우 표피의 구조와 기능에 어떠한 변화가 동반되는지 조사하였다.

피부위축은 병리조직학적 소견상 뚜렷한 표피의 변화와 연관이 있었다. 표피두께는 명백히 감소하고 각질층도 거의 없거나 손상된 소견이 동반되었다. Sheu 등¹³도 오래 동안 스테로이드를 도포해온 환자들을 통하여 피부위축과 각질층의 감소를 보고하였다.

TEWL의 변화는 피부장벽의 구조적, 기능적인 이상 정도를 반영한다^{13,17-20}. 기존의 보고와 마찬가지로^{13,16} 본 연구에서도 실험 1주째부터 의미있는 증가를 보였고 5주간 지속적으로 증가하는 양상으로 나타났다. Kao 등¹⁵은 피부장벽 회복과정에서 측정한 TEWL상 국소 스테로이드를 사용한 hairless mice에서 TEWL이 정상화되는 속도 즉 장벽회복 속도가 늦어진다고 하였다.

각질세포간 지질은 자체적으로 표피 내에서 합성되며 충판소체 내에 있다가 각질층의 최하부에서 각질형성세포가 각질화하기 전에 세포의 유출에 의해 세포간 공간으로 방출된다. 충판소체는 유극층과 과립층에서 합성되며 glycosphingolipid, 인지질, 콜레스테롤과 가수분해효소가 풍부하다. 각질층의 지질은 세라미드(45%), 콜레스테롤(25%), 지방산(15%)으로 이루어져 있고 각각 2~3%의 sphingosine, cholesterol sulfate, cholesterol esters, triglycerides로 구성되어 있으며 아주 미미한 양의 인지질과 당지질을 함유하고 있다. 이러한 각질층의 지질은 각질층 하부의 세포사이 융집력을 제공하며 이와 관련하여 각질세포 탈락에도 관여한다. 또한 수분과 이온의 소실에 대한 투과장벽으로서의 역할도 수행한다. 이러한 투과장벽 기능을 수행하는데 있어서 피부 투과성의 차이는 각질층의 두께나 수보다는 지질의 양적인 차이에 의하여 더 많은 영향을 받게 된다고 알려져 있다. 본 연구에서는 각질층의 지질을 보기 위해 시행한 전자현미경(RuO₄ 염색) 소견상 고용량의 스테로이드를 투여한 실험군에서 세포간 지질이 분절되어 있었고 세포간 간격도 넓어져 있음을 관찰하였다. 또한 OsO₄ 염색을 이용한 전자현미경 소견상 충판소체의 숫자 및 밀도가 감소되어 있었고 내용물이 없이 비어있는 비정상적인 충판소체도 관찰되었다. 과립층과 각질층 사이 공간으로 분비된 충판소체의 양도 현저하게 줄어들어 있었다. 고용량의 스테로이드를 투여할 경우 표피 지질의 생성이 감소되며 이것은 충판소체의 감소로 이어지고 지질손상과 더불어 장벽기능 이상을 초래한다. 기존의 보고들^{4,6}에서도 국소 스테로이드를 장기간 도포할 경우 장벽 기능이 저하됨을 보고하였으며 이러한 현상은 각질층의 두께 감소와 지질 성분 감소 및 과립층의 충판소체의 감소에 의한다고 하였다. Kao 등¹⁵은 3일간 고효능의 국소 스테로이드를 도포하였을 경우 표피의 지질합성이 감소함을 보고하였으며 충판소체의

숫자 및 밀도가 감소하고 과립층과 각질층 사이공간의 층판 소체 분비도 현저히 감소한다고 기술하였다. Sheu 등¹³도 오래동안 국소 스테로이드를 사용한 환자들을 대상으로 연구한 결과로 각질층의 지질 층판구조의 양적인 감소를 보고하였으며 이것은 스테로이드 도포와 층판소체의 생성과 분비의 감소와 연관이 있다고 주장하였다.

피부장벽의 손상시 나타나는 일련의 회복과정을 관찰한 연구들에 의해 여러 가지 이온들이 피부장벽과 연관이 있음이 증명되었다. 특히 칼슘이온은 피부의 항상성, 분화 및 증식에 관여한다²¹⁻²⁶. 칼슘이온 농도는 기저층과 유극 층에서 낮고 상층으로 갈수록 증가되어 외부 과립층에서 가장 높다. 즉 낮은 농도의 칼슘이온은 기저층에서 세포의 증식을, 높은 농도의 칼슘이온은 과립층의 세포분화와 연관된다. 피부장벽 손상은 표피의 상부에 있는 칼슘이온의 손실을 가져오고 결국 표피내 칼슘기울기는 소실된다. 이때 칼슘기울기의 소실은 피부장벽 손상에 의한 TEWL의 증가, 즉 표피내 수분이동의 증가에 의한 피동적인 칼슘이온의 손실에 의한다. 피부장벽 손상 후 고농도의 칼슘이온 용액에 담가서 인위적으로 칼슘기울기를 만들어 주면 피부장벽의 회복이 지연되므로, 칼슘이온은 피부장벽 회복의 과정에 중요한 역할을 하는 것이 분명하다^{21,24,26}. Lee 등²³은 피부장벽에 손상을 주지 않고 칼슘기울기를 변화시킬 수 있는 이온영동을 이용한 연구에서 피부장벽 손상 없이 유발된 칼슘기울기의 소실이 층판소체의 분비를 증가시키는 것을 확인하였다. 또한 Huang 등²⁷은 칼슘이온의 변화가 케라틴과 각질세포의 막(cornified cell envelope) 단백질의 발현에 변화를 가져오는 것으로 보아 칼슘이온이 각질세포의 말기분화에 중요한 역할을 수행한다고 하였다. 본 연구에서 calcium-capture cytochemistry를 통한 전자현미경 소견상 고용량의 스테로이드를 주사한 실험군에서 전반적인 칼슘이온농도의 감소와 칼슘기울기의 소실을 관찰하였다.

최근의 연구 결과에 따르면 정신적인 스트레스가 장벽의 항상성 유지를 방해하며²⁸ 이것은 스트레스에 의한 내인성 당질코티코이드의 증가와 연관이 있음을 제시한 바 있다²⁹. 다양한 피부질환에서 정신적인 스트레스가 유발인자 혹은 악화요인으로 작용하며 이것은 장벽 손상과 관련이 있다. 따라서 정신적 스트레스가 장벽을 손상시키는 것이 내인성 당질코티코이드 증가에 의한 것이라고 가정한다면 본 연구에서와 같이 고용량의 스테로이드가 장벽 손상을 일으키는 것은 스트레스가 장벽손상을 유발하는 것이 내인성 당질코티코이드의 증가와 관련이 있음을 입증하는 결과로 생각된다.

임상적으로 스테로이드를 사용함에도 전선이나 아토피 피부염 등의 질환에서 갑작스럽게 악화되는 경우가 있는데 이 경우 스테로이드에 의한 피부장벽 손상과 관련이

있다고 할 수 있다. 전선이나 아토피 피부염과 같은 피부장벽에 이상이 있는 질환에서 치료목적으로 국소 스테로이드제를 사용할 경우 질환을 호전시키는 효과를 나타낼 수도 있으나 반대로 스테로이드가 장벽의 손상을 유발함으로써 오히려 질환을 악화시킬 수도 있다¹⁵.

국소 스테로이드에 의한 부작용을 줄이기 위해 도포회수를 줄이거나 되도록 낮은 강도의 국소 스테로이드제제를 사용하는 방법이 있다. 또한 비활로겐화 스테로이드(nonhalogenated double-ester-type glucocorticoid)를 이용함으로써 부작용을 줄일 수도 있다. 또 다른 방법으로 피부위축을 방지하는 효과를 가진 약제와의 병용도 고려될 수 있다. Lesnik 등³⁰은 트레티노인(topical tretinoin)을 도포하는 것이 스테로이드에 의한 표피의 위축을 방지한다고 하였고 Kaidbey 등³¹은 타자로텐(tazarotene)을 도포할 경우 표피 위축을 감소시킨다고 하였다. 또한 기존에 사용하던 방법으로 보습제와 함께 바르는 것이 제시된 바 있고 특히 아토피 피부염이나 전선과 같이 피부장벽의 이상이 있는 질환의 경우 보조적인 치료목적으로 보습제를 사용할 수 있다. 보조치료목적의 보습제 사용은 좀더 좋은 효과를 보이는 보습제의 개발을 요구하게 되었고 이에 관한 연구가 이루어지고 있다. 이러한 연구를 수행하는데 있어서 효과 유무를 판정할 수 있는 실험 모델이 필요하므로 hairless mice를 이용하여 시행한 본 실험은 스테로이드에 의한 장벽손상과 회복에 관한 연구모델이 될 수 있을 것으로 생각한다.

결 론

스테로이드는 매우 다양한 약리학적 기전을 나타내며 장기간 사용시 여러가지 부작용을 초래함이 잘 알려져 있다. 이에 연구자들은 장기간 및 고용량의 스테로이드 주사가 무모생쥐의 피부장벽회복에 미치는 영향을 알아보자 하였으며 결과는 다음과 같다.

1) 고용량의 스테로이드 주사는 대조군에 비하여 실험군에서 피부위축을 유발하였고 경표피수분손실을 증가시켰다.

2) 병리조직학적 검사상 고용량의 스테로이드를 주사한 2주 정도부터 실험군은 대조군에 비하여 표피층이 얇아졌으며 각질층이 소실되었다.

3) 전자현미경 검사상 3주 정도부터 실험군의 경우 대조군에 비하여 표피지질의 구조가 파괴되거나 분절되는 양상이 관찰되었으며 세포간격이 넓어지고 세포간 지질이 감소하였다.

4) 전자현미경 검사상 3주 정도부터 실험군의 경우 대조군에 비하여 변형된 형태의 층판소체가 관찰되었으며 층판소체의 숫자와 밀도가 감소되었다.

5) 실험군의 경우 대조군에 비하여 칼슘기울기가 점차적으로 소실되는 양상을 나타내었다.

결과적으로 장기간 투여한 고용량의 스테로이드 주사는 피부장벽의 기능이상을 초래하며 형태학적인 이상을 유발하였다.

참 고 문 헌

1. Downing DT. Lipid and protein structures in the permeability barrier of mammalian epidermis. *J Lipid Res* 1992;33:301-313
2. Feingold KR. The regulation and role of epidermal lipid synthesis. *Adv Lipid Res* 1991;24:57-82
3. Menon GK, Feingold KR, Elias PM. Lamellar body secretory response to barrier disruption. *J Invest Dermatol* 1992;98:279-289
4. Aszterbaum M, Feingold KR, Menon GK, Williams ML. Glucocorticoids accelerate fetal maturation of the epidermal permeability barrier in the rat. *J Clin Invest* 1993;91:2703-2708
5. Hanly K, Rassner U, Elias PM, Williams ML, Feingold KR. Epidermal barrier ontogenesis: Maturation in serum-free media and acceleration by glucocorticoids and thyroid hormone but not selected growth factors. *J Invest Dermatol* 1996;106:404-411
6. Hanly K, Rassner U, Jiang Y, Hormonal basis for the gender difference in epidermal barrier formation in the fetal rat. Acceleration by estrogen and delay by testosterone. *J Clin Invest* 1996;97:2576-2584
7. Laurence EB, Christophers E. Selective action of hydrocortisone on postmitotic epidermal cells in vivo. *J Invest Dermatol* 1976;66:222-229
8. Delforno C, Holt PJ, Marks R. Corticosteroid effect on epidermal cell size. *Br J Dermatol* 1978;98:619-623
9. Tammi R. A histometric and autoradiographic study of hydrocortisone action in cultured human epidermis. *Br J Dermatol* 1981;105:383-389
10. du Viver A, Phillips H, Hehir M. Applications of glucocorticosteroids. The effects of twice-daily vs once-every-other-day applications on mouse epidermal cell DNA synthesis. *Arch Dermatol* 1982;118:305-308
11. Woodbury R, Kligman AM. The hairless mouse model for assaying the atrophogenicity of topical corticosteroids. *Acta Derm Venereol* 1992;72:403-406
12. Sheu HM, Tai CL, Kuo KW, Yu HS, Chai CY. Modulation of epidermal terminal differentiation in patients after long-term topical corticosteroids. *J Dermatol* 1991;18:454-464
13. Sheu HM, Lee JY, Chai CY, Kuo KW. Depletion of stratum corneum intercellular lipid lamellae and barrier function abnormalities after long-term topical corticosteroids. *Br J Dermatol* 1997;136:884-890
14. Sheu HM, Lee JY, Kuo KW, Tsai JC. Permeability barrier abnormality of hairless mouse epidermis after topical corticosteroid: characterization of stratum corneum lipids by ruthenium tetroxide staining and high-performance thin-layer chromatography. *J Dermatol* 1998;25: 281-289
15. Kao JS, Fluhr JW, Man MQ, Fowler AJ, Hachem JP, Crumrine D et al. Short-term glucocorticoid treatment compromises both permeability barrier homeostasis and stratum corneum integrity: Inhibition of epidermal lipid synthesis accounts for functional abnormalities. *J Invest Dermatol* 2003;120:456-464
16. Frosch PJ, Wendt H. Human models for quantification of corticosteroid adverse effects. In: *Models in Dermatology* (Maibach HI, Lowe NJ, eds.), Vol 2. Basel: Karger, 1985:5-15
17. Wilhelm KP, Maibach HI. Influence of aging on the barrier function of human skin evaluated by in vivo transepidermal water loss measurements. In: *Aging skin: Properties and functional change* (Leveque JL, Agache PG, eds.). New York: Marcel Dekker, Inc., 1993:239-250
18. Choi EH, Kim MJ, Ahn SK, Park WS, Son ED, Nam GW et al. The skin barrier state of aged hairless mice in a dry environment. *Br J Dermatol* 2002;147:244-249
19. Ahn SK, Jiang SJ, Hwang SM, Choi EH, Lee JS, Lee SH. Functional and structural changes of the epidermal barrier induced by various types of insults in hairless mice. *Arch Dermatol Res* 2001;293:308-318
20. Elias PM. Epidermal lipids, barrier function, and desquamation. *J Invest Dermatol* 1983;80:44-49
21. Menon GK, Elias PM, Lee SH, Feingold KR. Localization of calcium in murine epidermis following disruption and repair of the permeability barrier. *Cell Tiss Res* 1992;270:503-512
22. Elias PM, Nau P, Hanley K, Cullander C, Crumrine D, Bench G, Feingold KR. Formation of epidermal calcium gradient coincides with key milestones of barrier ontogenesis in the rodent. *J Invest Dermatol* 1998;110: 399-401
23. Lee SH, Choi EH, Feingold KR, Jiang S, Ahn SK.

- Iontophoresis itself on the hairless mouse skin induces the loss of the epidermal calcium gradient without skin barrier impairment. *J Invest Dermatol* 1998;111:39-43
24. Lee SH, Elias PM, Feingold KR, Mauro T. A role for ion in barrier recovery after acute perturbation. *J Invest Dermatol* 1994;102:976-979
25. Lee SH, Elias PM, Proksch E, Menon GK, Man MQ, Feingold KR. Calcium and potassium are important regulators of barrier homeostasis in murine epidermis. *J Clin Invest* 1992;89:530-538
26. Menon GK, Price LF, Bommannan B, Elias PM, Feingold KR. Selective obliteration of the epidermal calcium gradient leads to enhanced lamellar body secretion. *J Invest Dermatol* 1994;102:789-795
27. 황상민, 안성구, 이승현. 표피 칼슘기울기 변화가 각질형성세포의 분화에 미치는 영향. *대피지* 2001;39: 389-401
28. Grag A, Chren MM, Sands LP, Matsui MS, Marenus KD, Feingold KR et al. Psychological stress perturbs epidermal permeability barrier homeostasis: implications for the pathogenesis of stress-associated skin disorders. *Arch Dermatol* 2001;137:53-59
29. Denda M, Tsuchiya T, Elias PM, Feingold KR. Stress alters cutaneous permeability barrier homeostasis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000;278:367-372
30. Lesnik RH, Meick JA, Capetola R, Kligman LH. Topical all-trans-retinoic acid prevents corticosteroid-induced skin atrophy without abrogating the anti-inflammatory effect. *J Am Acad Dermatol* 1989;21:186-190
31. Kaidbey K, Kopper SC, Sefton J, Gibson JR. A pilot study to determine the effect of tazarotene gel 0.1% on steroid-induced epidermal atrophy. *Int J Dermatol* 2001;40:468-471