

자외선 조사에 의한 Hairless Mouse 피부구조 변화에 대한 형태학적 연구

송선영 · 윤중식 · 정민주 · 정경아 · 노영복
조선대학교 자연과학대학 생물학과

Morphologic Study on the Changes of Skin Structure of Hairless Mouse by Ultraviolet Irradiation

Song Sun Young, Yoon Jung Sik, Chung Min Ju
Chung Kyung A and Roh Young Bok
Dept. of Biology, College of Natural Science, Chosun Univ.
(Received December 22, 1997)

Abstract

This study was observed of the skin that changed after irradiation of the ultraviolet A. All the mouse were hairless which the weight are about 25g and the ages 6~8 weeks old.

The mouse were divided into six groups; control, irradiated for 6 hours, 3 days, 7 days, 14 days, 21 days and 28 days. Each group was irradiated with ultraviolet that is 320 nm~366 nm of wavelengths. After irradiated, the skin was observed with the electron microscope and the light microscope.

The results are as follow:

1) Light microscopy

With following irradiation, the epidermis was not changed to most groups but at the 28 days group was thickened and deposit the melanocyte. The elastic fibers within the epidermis were thickened and twisted with following irradiation.

2) Electron microscopy

The elastic fibers were slightly clumped at 6 hours group, mildly increased and partly aggregated in the 3 days group, branched and tangled at 7 days group, irregular and electron density at 14 days group, slightly thickened and twisted at 21 days group, and randomly arranged, shortened, twisted, and electron density at 28 days group.

Key words : Ultraviolet A, Elastic fiber, Hairless mouse, TEM

* 이 논문은 1995년도 조선대학교 학술연구비 지원에 의하여 연구되었음.

서 론

피부는 인체를 감싸고 있는 중요한 기관 중의 하나로써 표피, 진피, 피하지방층의 3층으로 구성되어 있다(Maried, 1991). 또한 피부는 해부학적으로 외부와의 경계부에 위치하여 어느 장기보다 미생물, 화학물질, 외부의 물리적인 요인 즉, 열, 한랭, 기계적 자극, 태양광선 및 방사능 등에 항상 노출되어 직접 손상을 받는다. 이중 태양광선이 인체에 미치는 영향은 광물리, 광화학, 광생물학 및 광면역학 반응을 거쳐 피부에 염증성 반응에서부터 암에 이르기 까지 다양한 반응을 나타낸다.

태양광선은 인간이 생명과 자연계를 유지하는데 꼭 필요한 것이며 광합성으로 우리에게 영양분을 공급, 비타민 D 합성 유도, 전선이나 백반증의 광선 치료에 이용되기도 하는 등 우리에게 매우 유익한 역할을 한다. 그러나 반대로 광과민성질환, 광노화, 피부암 발생 등 해로운 점도 있다(윤재일, 1994).

태양광선을 파장에 따라 분류하면 자외선, 가시광선, 적외선으로 나눈다. 이중 피부에 장애를 직접적으로 초래할 수 있는 광선은 주로 자외선이며 지표에 도달하는 태양광선의 약 5~6%를 차지하고 있다. 그러나 이 적은 양의 자외선이 표피를 통과하며 전체 자외선의 1% 정도가 진피에 도달하여 여러 가지 생물학적 변화를 일으킨다.

자외선은 1801년 독일의 화학자 리테르(Ritter)가 최초로 발견한 광선으로써 '냉선' 혹은 '화학선'이라고도 부른다(윤재일, 1994). 자외선을 세분화하면 오존층에 의해 제거되는 제일 짧은 파장인 자외선 C (200~290 nm), 유리창에 의해 제거되는 중간파장인 자외선 B (290~320 nm)와 가장 긴 자외선인 자외선 A (320~400 nm)로 나누어지며, 자외선 A와 B가 지상에 도달하고 우리의 피부와 밀접한 관계가 있다.

자외선은 피부에 흡착되어 여러 가지 생물학적 변화를 일으키는데 체내에서 비타민 D 형성, 세포의 활동 증가, 질병에 대한 저항력 증진, 피부질환의 치료에 유효하나, 과도하게 노출될 경우 체내에 파괴적인 작용, 즉 조기노화, 모세혈관 확장증, 과각질화, 기미, 피부암, 저색소증 등의 유발확률이 높고 피부표면조직

을 파괴하며 피부를 부어오르게 하는 등 대부분은 세포손상, 세포괴사, 악성종양 발생 등의 해로운 결과를 나타내고 있다(Freeman, 1975; Greaves *et al.*, 1981; Pathak, 1982; 류 *et al.*, 1986).

자외선에 의한 피부반응으로는 홍반반응, 색소반응, 피부두께의 변화, 광노화, 광발암 현상이 나타난다. 홍반반응은 자외선에 의해 나타나는 가장 두드러진 피부반응으로서 진피 혈관 확장으로 혈류량이 증가됨으로써 생긴다. 색소반응은 자외선이 조사되면 멜라닌 세포가 관여하는 반응으로서 자외선 A와 가시광선 조사로 인해 나타나는 즉시 색소침착(Immediate pigment darkening; IPD)과 주로 자외선 B에 의해 나타나는 지연 색소침착(Delayed Tanning; DT)반응이 나타난다.

자외선 조사시 표피의 두께를 증가시켜 피부의 지속적인 자외선 조사에 대한 내성을 증가시킨다. 이러한 반응은 자외선 조사후 DNA, RNA 합성증가와 단백질 합성의 증가와 함께 표피의 유사분열의 증가에 의한 결과이다.

장기간에 걸친 광노출로 임상적 혹은 조직학적 피부 변화를 일으키는 광노화 현상과 광발암 현상 등을 유발한다. 최근에 자외선은 피부질환의 치료에 널리 이용되고 있으나 피부에 미치는 부작용도 적지 않으므로 자외선의 영향에 대한 작용기전 및 조직변화에 대한 연구가 점차 많아지고 있다. 과거 자외선 A 조사는 인체에 무해하다고 생각하여 광의학적 연구의 대부분이 자외선 B에 대한 연구로 주를 이루었다(Rosdahl, 1978; Poulsen, 1984; Kligman *et al.*, 1985).

Kligman 등(1985)은 자외선 B 조사에 의한 Hairless mouse 피부의 결합조직 손상에 관한 연구를 발표하였다. 그러나 현재 자외선 A도 자외선 B와 더불어 광노화, 광발암 현상에 기여함이 밝혀졌으며 홍반반응, 색소반응을 일으킨다고 알려졌다(Jarratt *et al.*, 1983; Gilchrest *et al.*, 1983; Rivers *et al.*, 1989).

Braverman과 Fonferko (1982)는 자외선 조사시 피부변화와 조사하지 않는 피부조직을 비교관찰함으로써 자외선이 피부에 미치는 영향을 발표하였다. 특히, 최근에는 인간의 수명이 점차 길어지므로 일생동안 받는 자외선중 자외선 A가 미치는 영향을 무시할 수 없다.

이러한 배경에서 본 실험은 Hairless mouse에 자외

선 A를 조사하여 실질적으로 피부조직의 형태학적 변화를 광학현미경과 전자현미경을 통해 관찰하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 실험동물은 6주령된 체중 25g내외의 외관상 건경한 수컷 Hairless Mouse를 대조군과 6시간, 3일, 7일, 14일, 21일, 28일군으로 나누어 자외선을 조사했다.

광원은 Hand lamp (Upland CA91786 U.S.A., 115Volts 60Hz 0.16AMPS 6Watt)의 multiband중 longwave인 자외선 A를 사용하여 매일 5.76 J/cm²의 광량을 조사하였다. 피부와 광원과의 거리는 20 cm로 하였다.

2. 광학현미경적 관찰

Hairless mouse를 ether로 마취하고, 등 부위의 피부를 절취하여 10% Normal Buffered Formalin (NBF)에 24시간 고정된 후 수세와 일련의 탈수과정과 치환을 거쳐 파라핀에 포매한 후 6~7 μm로 박절한 다음, Verhoeff-van Gieson으로 염색하여 관찰하였다(김성인, 1995).

3. 전자현미경적 관찰

각각의 실험군을 ether로 마취하여 피부일정부위를 절취한후 즉시 1 mm³ 크기로 세절하여 모든 조직을 2% glutaraldehyde-2.5% paraformaldehyde (Millong's phosphate Buffer, pH 7.2)용액으로 4°C에서 3~4시간 전고정하고, 동일 완충액으로 3회 수세하였다. 동일 완충액으로 제작한 1% osmium tetroxide용액으로 2시간 고정한 다음 동일 완충액으로 3회 수세하고, ethanol-acetone의 농도차에 따라 탈수하였으며 Epon 812로 포매하였다. 포매된 조직은 ultramicrotome을 이용하여 1 μm 두께의 절편을 만들어 관찰부위를 확인한 후, 60 nm의 초박절편을 얻어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하여 JEOL-2000 FX-II형 투과전자현미경 (80 kV)으로 관찰하였다.

결 과

1. 광학현미경적 관찰

각 실험군에서 표피의 변화는 비교적 경미하였으나 조사시간이 경과함에 따라 표피층이 비후되었다. 특히 28일군에서 표피층이 현저하게 비후되었고, 멜라닌형성세포의 증식이 나타났다(Figs. 1, 2, 3, 4, 5, 6). 탄력섬유가 조사시간이 경과함에 따라 두터워지고 엉키는 현상이 나타났다(Fig. 5).

2. 전자현미경적 관찰

6시간군에서의 탄력섬유는 다량 산재해 있으며 약간 덩어리된 부분이 관찰되었다(Fig. 7). 3일군에서 탄력섬유는 약간의 증식현상이 보이고, 부분적으로 응집되었음을 관찰할 수 있었다(Fig. 8). 7일군에서 탄력섬유는 가지를 내고 있고, 엉키는 현상이 관찰되었다(Fig. 9). 14일군에서는 불규칙한 모양의 탄력섬유가 보이고, 부분적으로 응집되어 있으며, 전자밀도가 비교적 높게 나타났다(Fig. 10). 21일군에서는 탄력섬유가 약간 두터워지면서 꼬여있다(Fig. 11). 28일군에서는 탄력섬유의 모양이 불규칙하면서 짧게 나타나고, 꼬여있는 현상을 관찰할 수 있었으며 전자밀도가 높게 나타났다(Fig. 12).

고 찰

피부암 발생에 대한 자외선의 영향은 이미 1875년 Thiersch에 의해 처음 주장되었으며 1894년 Unna도 피부암을 위시하여 피부의 자외선에 의한 만성반응을 주장하였다.

실험적으로 생쥐를 자외선에 장시간 노출시킬 경우 피부에 암이 발생한 결과를 보고하였다(Fukuyama 등, 1970; Epstein, 1981, 1983). 그리고 자외선 A는 자외선 B와 비교하여 극히 적은 발암성을 가진다고 알려져 있다(Freeman, 1975; Poulsen et al., 1984).

자외선 A는 표피내에서의 흡수가 적고, 자외선 B보다 좀 더 피부 깊숙이 침투할 수 있으며 홍반을 유발시키기 위해서는 자외선 B 조사시보다 1000배 이상의

광량이 필요하다(윤재일, 1994). 홍반유발 용량의 자외선 A는 주로 혈관의 손상과 진피내 세포 침윤을 일으키는 반면(Kumakiri and Hashimoto, 1977; Greaves and Briffa, 1981; Raab, 1990), 동량의 홍반을 유발할 수 있는 자외선 B는 주로 일광화상세포(Sunburn cell)와 같은 표피에 변화를 일으킨다고 하였다(Lavker *et al.*, 1980; 조 *et al.*, 1986). 그리고 자외선 A에 의한 즉시형 색소침착(Immediate Pigment Darkening; IPD)은 자외선 B에 의한 일광화상에 대해 보호작용이 있다고 보고되었다(Rivers *et al.*, 1989).

많은 연구자들은 인체의 노화 피부에서 탄력섬유를 광학현미경과 전자현미경으로 관찰한 결과 탄력섬유의 증식현상, 응집현상, 두터워지는 현상과 꼬여져 있는 현상을 관찰하여 보고하였다(Montagna and Carlisle, 1979; Braverman and Fonferko, 1982; Jablonska *et al.*, 1972; Stevanovic, 1972).

본 실험에서는 광선중 파장이 320~366 nm인 자외선 A를 조사하여 탄력섬유를 관찰한 결과 자외선 조사 6시간에서 탄력섬유가 덩어리지는 현상이 보였고 3일군에서는 탄력섬유의 증식이 보였으며 조사시간이 길어짐에 따라 두터워지며 엉키는 현상이 현저히 나타남을 관찰할 수 있었다.

Danielsen과 Kobayasi (1972)는 29세 성인의 위축된 피부에서 탄력섬유를 광학현미경으로 관찰한 결과 불규칙한 모양의 탄력섬유가 관찰되었고, 본 실험에서도 자외선 조사 14일군에서 불규칙한 모양의 탄력섬유가 관찰되었으며 28일군에서는 불규칙한 모양의 탄력섬유가 현저하게 나타남을 관찰하였다. 또한, 63세 성인의 위축된 피부에서는 탄력섬유가 부분적으로 응집되며 전자밀도가 높게 나타남을 보고하였다. 본 실험의 14일군에서 탄력섬유의 응집현상과 전자밀도가 높게 나타남을 관찰할 수 있었고, 28일군에서도 높은 전자밀도를 갖는 탄력섬유를 관찰할 수 있었다.

Kligman 등(1982)은 인체에 자외선을 조사하여 탄력섬유를 관찰한 결과 섬유가 증식된 현상을 관찰할 수 있었고, 그후 탄력섬유는 두터워지고 엉켜 있는 현상을 관찰하였는데 본 실험의 3일군에서 탄력섬유가 증식되었음을 볼 수 있었고 21일군에서는 탄력섬유가 두터워지고 엉키는 현상이 현저하게 나타남을 관찰할

수 있었다.

Bissett (1987)는 female albino hairless mouse에 1.5 J/cm²의 광량을 조사하여 16주후(160 J/cm²) 관찰한 결과 탄력섬유가 두터운 띠와 같은 형태로 서로 엉켜 있는 탄력섬유층을 관찰하여 보고하였다. 본 실험에서는 3일군(38.32 J/cm²)에서 엉키는 현상을 관찰할 수 있었고 광량이 비교적 높은 28일군(161.28 J/cm²)에서 탄력섬유층이 현저하게 나타나는 결과를 관찰할 수 있었다. 또한, Braverman과 Fonferko (1982)는 비교적 낮은 자외선 조사에서도 탄력섬유의 수가 증가하였고, 점차로 불규칙하게 두터워졌으며 전자밀도가 높아졌음을 보고하였다. 그러나, Poulsen (1984) 등은 낮은 광량에서 탄력섬유의 변화는 거의 관찰할 수 없었다고 보고하였다. 본 실험에서도 자외선 조사 6시간까지는 탄력섬유의 변화를 거의 찾아볼 수 없었다.

Kumakiri 등(1977)은 0, 86, 173 J/cm²의 자외선 A를 인체피부에 조사한 결과 표피층의 변화는 경미함을 보고하였으나 본 실험에서 자외선 조사 14일군까지는 표피층의 변화가 비교적 경미하였고 21일군(120.96 J/cm²)에서는 비후현상이 관찰되어 28일군에서는 현저하게 비후되었음을 관찰할 수 있었다.

한 등(1986)은 흑색마우스에 매일 50 mJ/cm²의 자외선 B를 조사한 후 광학 및 전자현미경으로 관찰한 결과 자외선 B조사 3일군 및 4일군에서부터 표피층의 변화가 나타나기 시작하여 7일군과 21일군에서 표피층 비후현상이 나타났으며 특히, 7일군에서 현저히 나타남을 보고하였다.

또한, Lowe 등(1981)은 매일 0.09 J/cm² 양의 자외선 B를 조사하여 광학현미경으로 관찰한 결과 조사 20일군에서 표피층이 증식되었음을 관찰하였다.

본 실험에서는 자외선 A조사에 의한 표피층의 변화가 비교적 경미하였으나, 조사시간이 경과함에 따라 표피층이 비후되는 현상이 나타났고, 특히 28일군에서 가장 현저하게 관찰되었다.

이상의 결과에서 자외선의 파장과 광량에 따라 탄력섬유의 변화정도는 차이가 있으나 탄력섬유의 변성을 가져옴을 관찰할 수 있었고, 자외선 A는 자외선 B보다 표피에 미치는 영향이 경미하였음을 볼 수 있었다.

이미 자외선은 피부과 영역에서 치료의 역할을 하고

있는 반면, 피부에 부작용 또한 적지 않음을 보았다. 그래서 자외선을 차단하기위해 일광차단제, β -carotene, chloroquine같은 전신투여제 등이 발견되어 실험적으로 일광화상세포가 감소되고 홍반과 즉시 색소침착이 감소됨을 관찰할 수 있었다(Stenberg and Larko, 1985). 그러나 생리적 노화나 광노화의 기전이 명확히 밝혀져 있지 않으므로 이에 대한 연구가 계속적으로 이루어진다면 광노화에 대한 예방이 더 효과적인 것이라 사료되며 현재 광노화와 생리적 노화의 차이에 대한 생리학적, 병리학적 연구가 활발히 진행되고 있다.

결 론

본 연구는 Hairless mouse에 자외선 A를 조사하여 피부구조의 변화를 관찰하기 위해 시행하였다. 실험동물은 6~8주령된 25 g내외의 수컷 Hairless mouse를 사용하였으며 자외선은 파장이 320~366 nm인 Hand-lamp를 이용하여 대조군, 6시간, 3일, 7일, 14일, 21일, 28일로 구분하여 조사하였다.

자외선 조사후 피부를 즉시 적출하여 광학현미경과 투과전자현미경으로 관찰한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 광학현미경적 소견

조사시간이 경과함에 따라 표피층의 변화는 비교적 경미하였으나, 비교적 광량이 높은 28일(161.28 J/cm²)군에서 현저하게 표피층이 두터워지는 현상이 나타났다. 또한 멜라닌형성세포의 증가를 가져왔다.

진피층에 있는 탄력섬유가 조사시간이 경과함에 따라 두터워지고 영키는 현상이 나타났다.

2. 전자현미경적 소견

피부 탄력에 관여하는 탄력섬유가 자외선 조사 6시간군에서는 약간 덩어리로 되는 현상이 보였고, 3일군에서는 약간의 증식이 보이고, 부분적으로 응집되어있음이 관찰되었다. 7일군에서 탄력섬유는 가지를 내고, 영키는 현상이 관찰되었다. 14일군에서 불규칙한 모양의 탄력섬유가 보이며 전자밀도가 높게 나타났고, 21일군에서는 탄력섬유가 두터워지면서 꼬여져있는 현상

이 보였다. 광량이 비교적 높은 28일군에서는 탄력섬유의 모양이 불규칙하면서 길이가 짧게 나타나고, 꼬여있는 현상을 관찰할 수 있었으며 전자밀도가 높게 나타나는 현상을 관찰할 수 있었다.

참 고 문 헌

- Bissett DL, Hannon DP, Orr TV, 1987. An animal model of solar-aged skin: histological, physical and visible changes in UV-Irradiated Hairless mouse skin, *Photochem. Photobio.* 48, 367-378
- Braverman IM, Fonferko I, 1982. Studies in cutaneous aging. I. The elastic fiber network, *J. Invest. Dermatol.* 78, 434-443
- Danielsen L, Kobayasi T, 1972. Degeneration of dermal elastic fibers in relation to age and light-exposure, *Acta Dermatovener (Stockholm)* 52, 1-10
- Epstein JH, 1981. Effects of retinoid on ultraviolet-induced carcinogenesis, *J. Invest. Dermatol.* 77, 144-149
- Epstein JH, 1983. Photocarcinogenesis, skin cancer, and aging, *J. Am. Acad. Dermatol.* 9, 487-494
- Freeman RG, 1975. Data on the action spectrum for ultraviolet carcinogenesis, *J. Natl. Cancer Inst.* 55, 1119-1121
- Fukuyama K, Epstein JH, Fye D, 1970. Effects of ultraviolet radiation on the mitotic cycle and DNA, RNA, and protein synthesis in mammalian epidermis in vivo, *Photochem. Photobiol.* 12, 57-65
- Gilchrist BA, 1983. Histologic changes associated with ultraviolet A-induced erythema in normal human skin, *J. Am. Acad. Dermatol.* 9, 213-219
- Greaves MW, Briffa V, 1981. UV-A and the Skin, *Br. J. Dermatol.* 105, 477-482
- Jablonska S, Groniowska M, Dabrowski J, 1979. Comparative evaluation of skin atrophy in man induced by topical corticoids, *Br. J. Dermatol.* 100, 193-206

- Jarratt M, Hill M, Smiles K, 1983. Topical protection against long-wave ultraviolet A, *J. Am. Acad. Dermatol.* 9, 354-360
- Kligman LH, Akin FJ, Kligman AM, 1982. Prevention of ultraviolet damage to the dermis of hairless mice by sunscreens, *J. Invest. Dermatol.* 78, 181-189
- Kligman LH, Akin FJ, Kilgman AM, 1985. The contributions of UVA and UVB to connective tissue damage in hairless mice, *J. Invest. Dermatol.* 84, 272-276
- Kumakiri M, Hashimoto K, Willis I, 1977. Biologic changes due to long-wave ultraviolet irradiation on human skin: Ultrastructural Study, *J. Invest. Dermatol.* 69, 392-400
- Lavker RM, Fred Kwong F, Kligman AM, 1980. Changes in skin surface patterns with age, *J. Gerontol.* 35, 348-354
- Lowe NJ, 1981. Ultraviolet light and epidermal polyamines, *J. Invest. Dermatol.* 77, 147-153
- Maried EN, 1991. Human anatomy and physiology, The benjamin/cummings publishing company, pp.135-139
- Montagna W, Carlisle K, 1979. Structural changes in aging human skin, *J. Invest. Dermatol.* 73, 47-53
- Pathak MA, 1982. Sunscreen: Topical and systemic approaches for protection of human skin against harmful effects of solar radiation, *J. Am. Acad. Dermatol.* 7, 285-312
- Poulsen JT, Staberg B, Wulf HC, Brodthagen H, 1984. Dermal elastosis in hairless mice after UV-B and UV-A applied simultaneously, separately or sequentially, *Br. J. Dermatol.* 110, 531-538
- Raab WP, 1990. The skin surface and stratum corneum, *Br. J. Dermatol.* 35, 37-41
- Rivers JK, Norris PG, et al., 1989. UVA Sunbeds: Tanning, Photoprotection, Acute adverse effects and immunological change, *Br. J. Dermatol.* 120, 767-777
- Rosdahl IK, 1978. Melanocyte mitosis in UVB-irradiation mouse skin, *Acta Dermatovener (Stockholm)* 58, 217-221
- Stenberg C, Larko O, 1985. Sunscreen application and its importance for the sun protection factor, *Arch. Dermatol.* 121, 1400-1408
- Stevanovic DV, 1972. Corticosteroid-induced atrophy of the skin with telangiectasia, *Br. J. Dermatol.* 87, 548-566
- 김성인 · 신용철 · 양용석 · 오근영, 1995. 질병진단을 위한 조직병리검사학, 대학서림 pp. 222-224
- 류경옥 · 국홍일 · 성낙응, 1986. 자외선 조사 및 일광 차단제 도포후 자외선 조사시 신생취의 간직내 Cytochrome 효소제와 Vitamin D함량 변화에 관한 연구, *대한피부과학회지* 24, 205-211
- 윤재일, 1994. 광의학, 여문각 pp. 96-121
- 조광열 · 윤재일 · 이유신, 1986. 자외선 조사에 의한 생취 피부에서의 일광화상 세포의 정량적화, *대한피부과학회지* 24, 8-15
- 한경원 · 한혜기 · 명기범 · 국홍일, 1986. 자외선 및 광화학 처치에 의한 흑색 마우스의 표피변화, *대한피부과학회지* 24, 586-593

FIGURE LEGENDS

Ep: epidermal layer D: dermal layer E: elastic fiber

Fig. 1. Hairless mouse irradiated with 6 hours exposure of UVA ($\times 200$).

Fig. 2. Hairless mouse irradiated with 3 days exposure of UVA ($\times 200$).

Fig. 3. Hairless mouse irradiated with 7 days exposure of UV ($\times 200$).

Fig. 4. Hairless mouse irradiated with 14 days exposure of UVA ($\times 200$).

Fig. 5. Hairless mouse irradiated with 21 days exposure of UVA ($\times 200$).

Fig. 6. Hairless mouse irradiated with 28 days exposure of UVA ($\times 200$).

Fig. 7. An electron micrograph of elastic fiber by ultraviolet irradiation with 6 hours. Fine elastic fibers showed a few clumped (\rightarrow). N: nucleus E: elastic fiber. bars= $1\mu\text{m}$.

Fig. 8. An electron micrograph of elastic fiber by ultraviolet irradiation with 3 days. Mild hyperplasia with slightly thickening of fibers (\blacktriangleright) and partly aggregated (\rightarrow). bars= $1\mu\text{m}$.

Fig. 9. An electron micrograph of elastic fiber by ultraviolet irradiation with 7 days. Elastic fiber were branched (\rightarrow) and tangled (\blacktriangleright). bars= $1\mu\text{m}$.

Fig. 10. An electron micrograph of elastic fiber by ultraviolet irradiation with 14 days. Irregularly shaped elastic fibers (\blacktriangleright) showed partly aggregated and electron density (\rightarrow). bars= $1\mu\text{m}$.

Fig. 11. An electron micrograph of elastic fiber by ultraviolet irradiation with 21 days. Elastic fibers were slightly thickened and twisted (\rightarrow). bars= $1\mu\text{m}$.

Fig. 12. An electron micrograph of elastic fiber by ultraviolet irradiation with 28 days. Elastic fiber showed random arrangement, shorten (\blacktriangleright), twist and highly electron density (\rightarrow). bars= $1\mu\text{m}$.







