

인공피부모델을 이용한 LTE 대역 전자파의 피부 영향 연구

김규리, 임경민*

이화여자대학교 약학대학

Investigation of Effects of EMF of LTE Bandwidth on an Artificial Human Skin Model

Kyu-Ri Kim, Kyung-Min Lim*

College of Pharmacy, Ewha Womans University, Seoul, 120-750, Republic of Korea

ABSTRACT. Skin is located on the outermost layer of body, which poses it to easy and frequent exposure to toxic chemicals, physical stimuli and environmental contaminants. Depending on the stimuli, outcomes of skin toxicity may differ, which include commonly observed, and evident skin reactions like skin burn, irritation, sensitization, phototoxicity, or photosensitivity. Less common reactions like pigmentary disorders, urticaria, and fibrosis can also occur. Effects of sunlight on the skin have been well established and with this, radiations with longer wavelength are gathering interest for their effects on the skin health. In this study, we investigated the effects of electromagnetic field (EMF) of LTE bandwidth, 1.742 GHz, SAR 6-8 W/kg on the skin by using an artificial human skin model. The results indicated that EMF exposure does not have much effect on epidermal cytotoxicity or obvious pigmentation in the skin, but it has a slight effect on skin epidermal integrity and melanocyte activation. The mechanism and the final outcome of EMF exposure should be further studied through more scientific studies and various molecular biochemical studies.

KEY WORDS: EMF, LTE, Artificial Human Skin Model, Skin Health

Introduction

피부는 최외각 층에 위치하여 항상 화학물질, 물리적 자극과 환경 물질에 노출되어 있다. 따라서 독성이 강한 물질이나 자외선, 전자파, 방사선, 열 등의 물리적 자극에 노출이 된 경우에는 피부 독성이 나타난다 [1]. 유해화학물질이 피부에 접촉되는 것에 의해 장애가 생기는 것을 접촉성 피부염(contact dermatitis)이라고 한다. 이 피부장애를 일으키는 기전에는 직접적인 장애(자극성 피부염), 면역학적 장애(알레르기성 접촉피부염) 및 화학열상이 있다. 더욱이 화학물질과 태

양광선과의 복합작용에 의해 일어나는 피부염은 광과민증(photosensitivity)이라 불린다. 광과민증에는 그 기전에 따라 광독성 피부염과 광알레르기성 접촉피부염으로 나누어진다 [2, 3]. 특히 피부에 대한 태양광, 자외선의 작용에 대해 많은 연구가 진행되었는데 화상, 홍반 생성, 색소이상, 광노화의 효과를 일으킨다. 특히 피부에 대한 태양광, 자외선의 작용에 대해 많은 연구가 진행되었는데 화상, 홍반 생성, 색소이상, 광노화의 효과를 일으킨다 [4]. 최근 태양광 뿐만 아니라, 파장이 긴 블루라이트와 적외선의 피부유해영향이 밝혀지면서 이보다 파장이 긴 생활전자파의 피부건강에 미치는 영향에 대한 관심이 모아지고 있어 이에 대한 연구가 필요한 실정이다 [5].

전자파는 파장의 범위에 따라 극저주파(Extremely Low Frequency: ELF), 무선파(Radio Frequency Radiation: RF), 마이크로파(Microwave Radiation)로 분류할 수 있다. 일반적으로 극저주파(ELF)는 3~3,000Hz 범위의 주파수(frequency)로 가정과 직장에서 고압전선(high voltage power lines)에 의해 발생

Received: 29 November 2019

Revised: 13 December 2019

Accepted: 13 December 2019

* Corresponding author: Kyung-Min Lim
College of Pharmacy, Ewha Womans University,
Seoul, 120-750, Republic of Korea
Tel: 02-3277-3055 Fax: 02-3277-3760
E-mail: kmlim@ewha.ac.kr

된다 [6]. 특히 무선파(Radio Frequency: RF)는 3kHz에서 300GHz까지의 범위의 전자기파(electromagnetic field, EMF)로써 무선전화, 휴대전화, WiFi 시스템, 위성통신 시스템, 라디오 및 TV 방송국, 그리고 쌍방향 무전기 등을 통하여 인체에 쉽게 노출되고 있으며, 이러한 무선 통신 장비들은 지속적으로 실생활 속에서 사용이 증가함에 따라 무선파 노출로 인한 건강 위협에 대한 관심이 높아지고 있다 [7-10].

전자파 관련 선행연구에 따르면 전자기장 (ELF-EMF)은 세포 이동, 분화, 사멸 및 세포 스트레스 반응을 포함하여 여러 유형으로 영향을 미치는 것이 확인 되었다 [11]. 또한 전자파의 노출은 유전자 손상, 신경계 질환, 생식장애, 면역장애, 신장손상, 전자파 과민증, 백혈병 등 많은 유전독성 효과가 보고되어 있다 [12-17]. 특히 휴대전화는 900 MHz의 무선파를 방출하고 피부가 무선파에 노출되었을 때 oxidative stress에 의한 lipid peroxidation (LPO)의 증가 또는 항산화 효과 활성 변화가 확인되었다 [18-20]. 또한 인체피부에서는 주파수가 증가할수록 피부 침투 깊이가 급격히 감소 하는 것이 확인 되었고, 전달된 전자기 전력의 90% 이상이 표피 및 진피 층 내에서 흡수되며 더 짧은 주파수일수록 더 깊은 조직으로 침투 한다는 것이 확인되었다 [21]. 발암물질 벤조피렌을 처리한 마우스에 2,450 MHz (전력밀도 5 mW/cm² -15 mW/cm²) 초극단파를 격일로 6개월동안 조사 하였더니 기저세포나 척추세포피부암종 (spinocellular skin carcinoma) 이 발생하였다. 결과를 통해 전자파가 노출된 동물세포에 cellular immune reaction을 저해함으로써 피부암 유발효과를 상승시켰다고 보고되었다 [22]. 또한 Pulsed electromagnetic fields (PEMFs)를 zebrafish에 조사한 연구에서는 멜라닌합성 유도 단백질인 Tyrosinase-related protein 1 (TRP1) 활성을 증가시키고, dopachrome kinase(ERK)의 Phosphorylation, 과 p38 phosphorylation을 증가시켜 색소침착을 유도 하였다. 따라서, EMF가 멜라닌 생성을 촉진함을 확인하고 hypopigmentation-related 피부질환인 백반증이나 gray hair를 치료할 수 있는 예로 제안됨으로써, 다른 파장의 전자파도 함께 연구해 볼 필요가 있음을 제시하였다 [23]. 극저주파를 이용한 피부연구 보고 등 최근 문헌들의 고찰에서도 확인할 수 있듯이 전자파의 주파수나 노출정도에 따라 그 양상이 매우 다를 것임을 시사한다.

본 연구에서는 전자파 (RF 영역)이 피부세포에 대한 영향 연구하고자 생체내 상황을 모방하고 동물실

험을 대체로 널리 사용되는 색소성 인공피부모델인 Melanoderm™을 활용하여 전자파에 대한 피부건강 영향을 연구하였다. 추가적으로 인공표피모델인 Keraskin™을 활용하여 전자파와 자외선의 이중 노출 영향을 분석 하였다.

Materials and Methods

1. 인공 피부모델

색소성 인공피부모델 Melanoderm™ (MatTek, Ashland, USA) 은 normal human epidermal keratinocytes 와 normal human melanocytes의 3D 공동배양을 통해 만들어진 인공피부모델이다. 인공피부모델을 37℃, 5% CO₂ incubator에서 24시간 pre-incubation 후 실험시작을 하였다. 인공조직 밝기 변화 측정을 위해 고정된 카메라로 이틀에 한번씩 조직 사진을 촬영하고 media change를 진행 후 48시간 주기로 전자파 (LTE영역)을 조사하였다. 마지막 전자파 조사 후 formalin 용액에 넣어 fix 한 후 조직병리를 진행하였다. Keraskin™ (Biosolution, Seoul, Korea) 은 형질전환되지 않은 인체 피부각질세포로 구성되어 있으며, 인체표피와 동일한 상피세포의 다층구조를 형성하고 있다. 인공표피모델을 37℃, 5% CO₂ incubator에서 24시간 pre-incubation 후 실험시작을 하였고 24 시간 전자파 (LTE영역)을 조사하였다.

2. 전자파 노출

Melanoderm™ 에 LTE Signaling exposure 주파수인 1.747 GHz 기계에서 SAR 8 W/kg 세기로 전자파를 조사하면서 10일간 인공피부의 색소침착을 추적 관찰하였다. 피부모델의 색 변화 관찰을 위해 매 실험마다 피부모델 각각 사진을 찍어 기록하였으며 피부모델을 꺼내어 피부모델 한 개씩 사진을 찍고 준비해둔 60 pi dish에 각각 옮긴 다음 음성대조군을 제외한 실험군을 전자파 노출 장비에 넣었다. 음성대조군은 37℃, 5% CO₂ incubator에서 후배양하고, 실험군은 전자파에 노출시키기 위해 dish 뚜껑을 열고 전자파 기계에서 이틀간 전자파 조사하였다. 이틀에 한번씩 위와 같은 방법으로 배지 교체를 진행하며 10 일동안 실험을 진행하였다. 실험 마지막 날에 조직을 formaldehyde 50 mL가 든 conical tube에 옮겨 넣어 고정시킨 후 H&E 염색을 진행하여 멜라닌의 양 변화를 관찰하였다.

3. 전자파 기계

본 연구에 사용된 LTE 노출 기계 장치는 RTL 노출 시스템에 적용되었다. 이 노출 시스템은 환기, 습도 및 온도를 포함한 환경조건을 제어하기 위해 특별히 설계된 기계로 chamber 내부 CO2 밀도 및 습도를 유지하기 위해 incubator의 gas가 chamber 전체에 순환되었다. 또한, cavity 바닥 전체에 걸쳐 물을 순환시키는 water pump는 LTE 노출동안 배지의 온도 상승을 보호하였다.

파수인 1.747 GHz 기계에서 SAR 8 W/kg 세기로 전자파를 10일간 조사 후 인공피부모형의 색소침착을 추적 관찰하였다. 이때 음성대조군은 37℃, 5% CO2 incubator에서 후배양 하였다. Melanoderm™은 배양일이 거듭될 수록 Melanin 생성이 진행되어 검게 변하는데 전자파를 8 W/kg으로 10일간 계속 쬐어준 결과 육안평가 (Fig.1A)와 발기에 대한 image analysis에서 (Fig. 1B) 큰 차이를 나타내지 않았다.

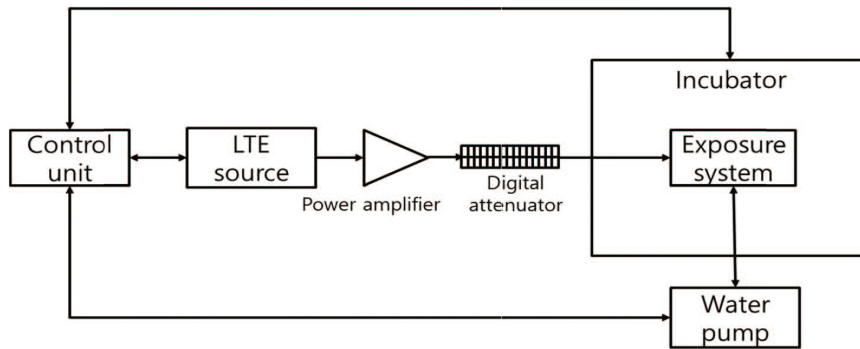
Results

1. RF 파 (LTE 영역) 노출에 의한 피부 색소침착 영향 연구

본 연구에서는 RF 등의 전자파 또한 피부의 색소침착을 유도할 수 있는지 색소화 인공피부모형인 Melanoderm™을 활용해서 확인해 보고자 하였다. Melanoderm™에 LTE Signaling exposure 주

2. RF 파 (LTE 영역) 노출 인공피부모형 Melanoderm™ 조직병리 결과

Melanoderm™에 LTE Signaling exposure 주파수인 1.747 GHz 기계에서 SAR 8 W/kg 세기로 전자파를 10일간 조사 후 인공피부모형의 색소침착을 추적 관찰한 후 실험 마지막 날 조직을 formaldehyde 50 mL가 든 conical tube에 옮겨 넣어 고정시킨 후 조직 염색을 진행하여 멜라닌의 양 변화를 관찰하였다. Figure 2에 나타난 것과 같이 전자파에 노출된 인공



<LTE 노출 장치 모식도>

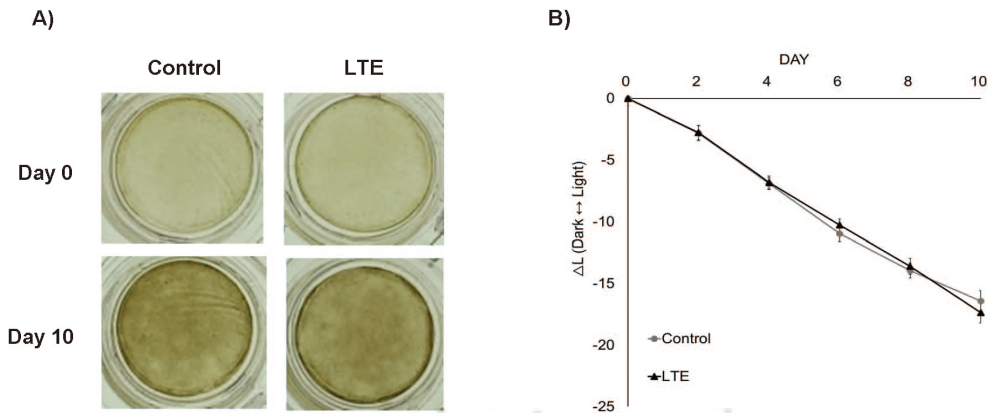


Fig 1. Melanoderm™에 대한 10일간의 전자파 조사의 효과 ((A)육안평가와 (B) image 분석을 통한 Lightness 평가. Data are presented as the ± SD (n = 4)

피부모델의 멜라닌 세포 크기가 control 대비 줄어들었음을 확인하였다. 특히 멜라닌을 specific 하게 염색하는 Fontana-Masson (FM) 염색에서 멜라닌 세포의 크기가 줄어들었음을 명확히 확인하였다. 또한 일부 멜라닌 세포의 활성화 양상이 관찰되어 이에 대한 추가연구가 필요하다.

3. 인공피부모델 Melanoderm™ 이용하여 RF 파 (LTE 영역)의 영향 연구

· 추가 실험에서 피부모델에 LTE Signaling exposure 주파수인 1.747 GHz 기계에서 SAR 8 W/kg 세기로 8일 동안 노출시킨 결과, 전자파 노출 4일째에서 Melanoderm™이 어두어진 반면, 4일 이후 6일째부터는 오히려 밝아지는 현상을 확인하였다 (Figure 3A, B). 이는 전자파에 의해 멜라닌 세포가 활성이 감소한 것으로 예상되며 추가 연구에서 LTE영역의 세포 독성 영향 연구가 필요하다.

4. 인공표피모델 Keraskin™을 이용한 RF 파 (LTE 영역)의 영향 연구

전자파의 영향을 극대화시키기 위하여 자외선을 쬐고 전자파에 노출시키는 이중 노출 모델을 사용하여 전자파의 피부효과를 확인하고자 하였다. 본 연구에 사용된 Keraskin™은 인간의 일차배양 각질형성세포를 이용하여 구축하여 인간의 피부 표피를 잘 모사한 것으로 알려져 있다. 인공표피모델인 Keraskin™에 전자파 노출 (RF (1.7 GHz) 6 W/kg (~12 mW/cm²) 24 hr 조사 (대략 12 mJ*60 sec*60 min*24 hr = 1,036 J/cm²) 및 자외선 (UVA) 동시 조사 유무에 의한 피부 영향을 분석하였다. 일차적으로 세포의 생존율을 측정하는 WST-1을 이용하여 인공피부 중 피부세포의 생존률 변화를 평가한 결과, 자외선 노출 유무와는 상관없이 전자파 노출에 의해서 피부세포 생존률에 유의한 효과를 미치지 않음을 확인하였다 (Figure 4A). 또한 전자파 노출된 Keraskin™ 병리 분석결

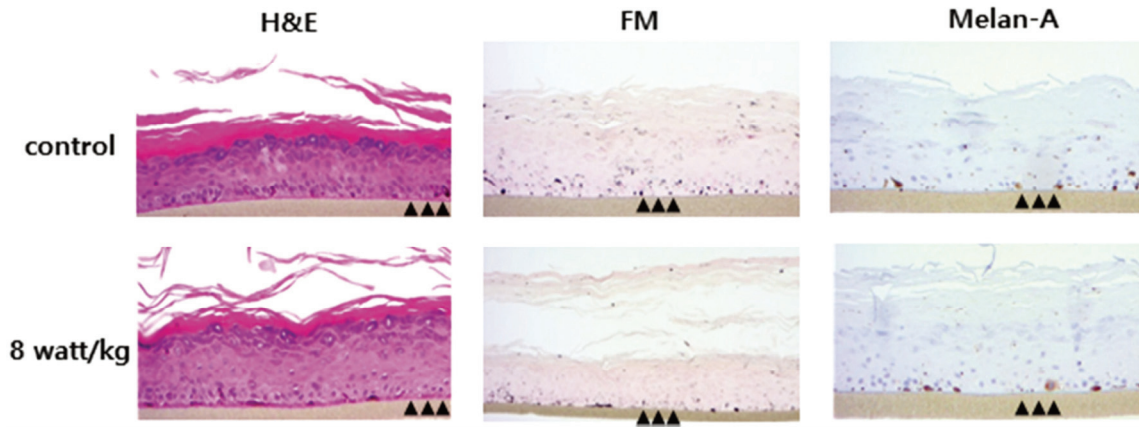


Fig 2. Melanoderm™에 대한 10일간의 전자파 조사 효과의 병리적 분석

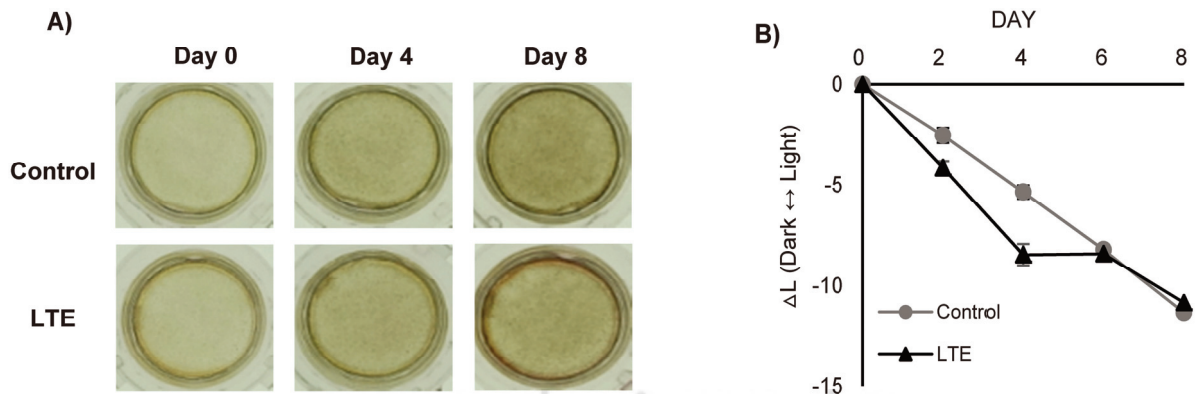


Fig 3. Melanoderm™에 대한 8일간의 전자파 조사 효과 ((A) Melanoderm™ 육안평가와 (B) image 분석을 통한 Lightness 평가). Data are presented as the ± SD (n = 4)

과 전자파 노출되지 않은 조직은 모든 부위에서 균질한 형태로 형성된 반면 전자파 노출 조직의 일부 부위에서 기저세포 공포화 및 비대가 관찰되었다 (Figure 4B).

Discussion

다양한 주파수 대역에서의 전기, 전자제품 및 무선 통신 사용자가 증가됨에 따라, 전자파 노출기회 또한 증가되고 있는 실정이다. 2011년 5월 WHO 산하국제암연구소(IARC)에서는 휴대전화 전자파를 커피, 절인 채소 등과 같은 수준의 발암가능물질(2B)로 분류하면서 전세계적으로 전자파에 대한 경각심이 새로워지고 인체 영향에 대한 대책 및 연구를 촉진시키는 계기가 되었다. [7],[8]. 선행 연구에 따르면 극저주파 전자기장은 biological system과 상호작용하여 건강에 영향을 미치는 것으로 보고되었고 특히 low-frequency electromagnetic fields (ELF-EMFs) 는 세포 이동, 분화, 세포 사멸, 및 스트레스 반응을 포함하여 수많은 유형의 cell process에 영향을 준다고 보고되었다 [24],[11]. 또한, 최근 연구에 따르면 극저주파 전기장에 의한 색소침착이 유도됨이 보고되었다 [25].

본 연구에서는 전자파 특히 LTE 영역의 노출이 피부에 어떠한 영향을 미치는지 인공피부모형을 이용하여 연구하였다. 색소성 인공피부모형인 Melanoderm™에 LTE 전자파를 10일동안 노출시킨 결과, image analysis에서의 변화는 확인하지 못하였지만 조직병리 결과 멜라닌 세포의 크기가 줄어들었음을 확인하였다. 특히 멜라닌 세포 특징으로 염색하는 Fontana-Masson (FM) 염색에서 멜라닌세포 활성이 줄어들었음을 확인하였다. 앞선 결과를 바탕으로 Melanoderm™을 8일 동안 LTE 영역을 노출시킨 결과, 전자파 노출 4일째

에서 Melanoderm™ 이 어두어진 반면, 4일 이후 6일째부터는 오히려 밝아지는 현상을 확인하였다. Figure 1과 3의 결과는 동일한 Melanoderm™ 과 동일한 LTE 영역을 노출시켰지만 유의하지 않은 현상을 확인하였다. 이는 실험 방법에서 petri-dish의 뚜껑을 열고 LTE영역을 노출한 것과 뚜껑을 닫고 노출한 것의 차이로 예측하였다. Figure 1의 결과는 petri-dish의 뚜껑을 닫고 LTE 영역을 노출시킨 결과를 얻었지만 뚜껑에 의한 전자파 노출 간섭영향이 있을 것으로 예상되어 추가 실험인 Figure 3에서는 petri-dish의 뚜껑을 열고 LTE 노출하였다. 따라서 LTE signaling 세기가 동일함에도 불구하고 petri-dish 뚜껑을 열고 진행한 Melanoderm™에 LTE영역이 잘 전달되었을 것으로 예상되며 Melanoderm™ 이 밝아지는 현상이 빨리 나타난 것으로 예측하였다. 따라서 추가 연구에서는 유의한 결과를 얻기 위해 실험 조건을 확립하여 진행하는 것이 필요하다.

추가로 인공피부모형인 Keraskin™ 을 이용하여 LTE 영역과 자외선을 이중노출 시킨 결과 세포 생존율에는 유의한 효과를 미치지 않음을 확인하였고, 조직 병리 분석결과에서 전자파 (RF) 조사에서 피부 기저층의 세포 주변의 공포화가 미약하게 관찰되었으나 세포 사멸 등의 명백한 독성은 관찰되지 않았다. 이러한 image 적 결과는 좀더 기전적 연구와 다양한 분자생화학적 연구를 통해 그 기전과 최종적 효과가 규명되어야 할 것이다. 또한 추가 연구에서는 전자파에 의한 배지량 증가나 손실을 고려해보아야 할 것으로 확인되었다. 극저주파를 이용한 피부연구 보고 등 최근 문헌들의 고찰에서도 확인할 수 있듯이 전자파의 주파수나 노출 정도에 따라 그 양상이 매우 다를 것임을 시사한다. 이에 피부의 다양한 기능, 즉, 장벽기능, 모발 성장, 결합조직 생성, 노화 등 다양한 지표를 활용하여, 전

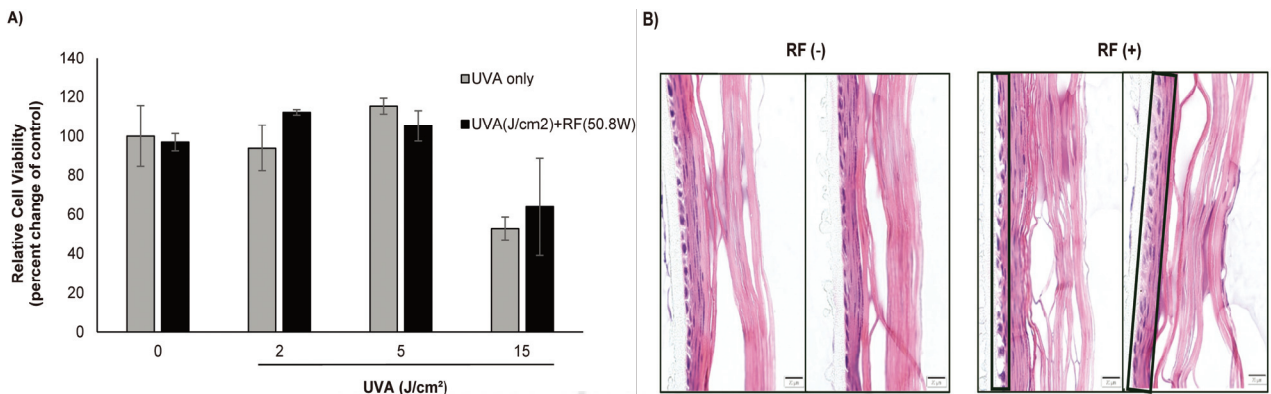


Fig 4. 인공피부모형 (Keraskin™)에 대한 전자파와 자외선 이중노출 결과 ((A) WST-1 assay 결과 (B) 조직 병리적 분석. Data are presented as the ± SD (n = 3)

층모델이나 모낭모델 등의 다양한 피부모델에서 보다 광범위한 영역의 전자파에 대한 연구가 필요함을 제시하였다.

Acknowledgment

This work was supported by the ICT R&D program of MSIT/IITP. [2019-0-00102, A Study on Public Health and Safety in a Complex EMF Environment]

References

- Kanikkannan, N., B.R. Locke, and M.J.T. Singh, *Effect of jet fuels on the skin morphology and irritation in hairless rats*. Toxicology, 2002. **175**(1-3): pp. 35-47.
- Smith, H., et al., *Irritant dermatitis, irritancy and its role in allergic contact dermatitis*. Clinical and experimental dermatology, 2002. **27**(2): pp. 138-146.
- Welss, T., D.A. Basketter, and K.R.J.T.i.v. Schröder, *In vitro skin irritation: facts and future. State of the art review of mechanisms and models*. Toxicology in vitro 2004. **18**(3): pp. 231-243.
- Liebmann, J., M. Born, and V.J.J.o.I.D. Kolb-Bachofen, *Blue-light irradiation regulates proliferation and differentiation in human skin cells*. Journal of Investigative Dermatology, 2010. **130**(1): pp. 259-269.
- Nakashima, Y., et al., *Blue light-induced oxidative stress in live skin*. Free Radical Biology and Medicine, 2017. **108**: pp. 300-310.
- Barr, R., et al., *ELF and VLF radio waves*. Journal of Atmospheric and Solar-Terrestrial Physics, 2000. **62**(17-18): pp. 1689-1718.
- Kim, J.-H., et al., *전자파 노출에 따른 생물학적 영향에 관한 최신 고찰과 전망*. The Proceeding of the Korean Institute of Electromagnetic Engineering and Science, 2015. **26**(2): pp. 10-23.
- Baan, R., et al., *Carcinogenicity of radiofrequency electromagnetic fields*. The lancet oncology, 2011. **12**(7): pp. 624-626.
- Adair, R.K.J.B.J.o.t.B.S., The Society for Physical Regulation in Biology and T.E.B.A. Medicine, *Biophysical limits on athermal effects of RF and microwave radiation*. The Society for Physical Regulation in Biology and Medicine, The European Bioelectromagnetics Association, 2003. **24**(1): pp. 39-48.
- Adair, R.K.J.B.J., *Vibrational resonances in biological systems at microwave frequencies*. Biophysical Journal, 2002. **82**(3): pp. 1147-1152.
- Back, S., et al., *Electromagnetic fields mediate efficient cell reprogramming into a pluripotent state*. ACS nano 2014. **8**(10): pp. 10125-10138.
- Phillips, J.L., N.P. Singh, and H.J.P. Lai, *Electromagnetic fields and DNA damage*. Pathophysiology, 2009. **16**(2-3): pp. 79-88.
- Ruediger, H.W.J.P., *Genotoxic effects of radiofrequency electromagnetic fields*. Pathophysiology, 2009. **16**(2-3): pp. 89-102.
- Zhao, T.-Y., S.-P. Zou, and P.E.J.N.I. Knapp, *Exposure to cell phone radiation up-regulates apoptosis genes in primary cultures of neurons and astrocytes*. Neuroscience letters, 2007. **412**(1): pp. 34-38.
- Lee, S., et al., *2.45 GHz radiofrequency fields alter gene expression in cultured human cells*. Febs letters, 2005. **579**(21): pp. 4829-4836.
- Demsia, G., D. Vlastos, and D.P.J.T.S.W.J. Matthopoulos, *Effect of 910-MHz electromagnetic field on rat bone marrow*. The Scientific World Journal, 2004. **4**: pp. 48-54.
- Lai, H. and N.P.J.E.h.p. Singh, *Magnetic-field-induced DNA strand breaks in brain cells of the rat*. Environmental health perspectives, 2004. **112**(6): pp. 687-694.
- Sato, T., et al., *Electrically detected magnetic resonance signal intensity at resonant frequencies from 300 to 900 MHz in a constant microwave field*. Journal of Magnetic Resonance, 1999. **139**(2): pp. 422-429.
- Irmak, M.K., et al., *Effects of electromagnetic radiation from a cellular telephone on the oxidant and antioxidant levels in rabbits*. Cell Biochemistry and Function: Cellular biochemistry and its modulation by active agents or disease, 2002. **20**(4): pp. 279-283.
- Moustafa, Y.M., et al., *Effects of acute exposure to the radiofrequency fields of cellular phones on plasma lipid peroxide and antioxidant activities in human erythrocytes*. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 2001. **26**(4): pp. 605-608.
- Wu, T., T.S. Rappaport, and C.M. Collins. *The human body and millimeter-wave wireless communication systems: Interactions and implications*. in 2015 IEEE International Conference on Communications (ICC). 2015. IEEE.
- Szudziński, A., et al., *Acceleration of the development of benzo(a)pyrene-induced skin cancer in mice by microwave radiation*. Archives of dermatological research, 1982. **274**(3-4): pp. 303-312.
- Kim, Y.-M., et al., *Pulsed electromagnetic fields increase pigmentation through the p-ERK/p-p38 pathway in zebrafish (Danio rerio)*. International journal of molecular sciences, 2018. **19**(10): p. 3211.
- Vizcaino, V., *Biological effects of low frequency electromagnetic fields*. Radiobiology, 2003. **3**: pp. 44-46.
- Cho, S.-E., et al., *Pigmentation effect of electromagnetic fields at various intensities to melanocytes*. Tissue engineering and regenerative medicine, 2016. **13**(5): pp. 560-567.