

Sequential Tape Stripping에 따른 피부 Parameters의 변화에 관한 연구

김 승 훈[†] · 김 은 주 · 남 개 원 · 안 성 연 · 이 해 광 · 문 성 준

(주)아모레퍼시픽 기술연구원 피부과학연구소 안전성연구팀
(2007년 5월 29일 접수, 2007년 5월 30일 채택)

Changes in Skin Parameters after Sequential Tape Stripping

Seung Hun Kim[†], Eun Joo Kim, Gae Won Nam, Sung Yeon Ahn, Hae Kwang Lee, and Seong Joon Moon

Safety and Efficacy Team, Skin Research Institute, Amorepacific R&D Center, 314-1, Bora-dong, Giheung-gu,
Yongin-si, Gyeonggi-do 449-729, Korea

(Received May 29, 2007; Accepted May 30, 2007)

요약: 피부장벽 기능은 중요한 피부 기능 중 하나로 각질층과 표피층은 다른 피부층 보다 이러한 기능에 있어 큰 역할을 담당하고 있는 것으로 여겨지고 있다. 각질층은 표피 기저층에서부터 표피세포가 위층으로 올라오면서 분화의 과정을 거쳐 형성되게 된다. 이러한 분화 과정은 피부 표면에서 완성되게 되며 지속적으로 올라오는 새로운 각질로 대체되게 되어 건강한 방어막을 형성하게 된다. 본 연구는 tape stripping에 따른 깊이별 여러 인자들의 변화를 살펴봄으로써 각질층의 각 부분의 역할에 대해 살펴보자 하였다. 피부 표면 수분량에 있어서는 각질층 중 위쪽에 위치하고 있는 uppermost stratum corneum (SC)가 중요한 역할을 하고 있는 것으로 나타났으며, 수분증발을 막는 장벽으로써의 역할은 lower SC가 주로 역할을 하는 것으로 나타났다. 그리고 일반적으로 pH는 각질의 산성 pH에서 표피 쪽으로 진행하면서 중성의 pH가 보여지는 것으로 보고되고 있는데 각질층만을 살펴봤을 경우, 아래층으로 내려가면서 오히려 다소 산도가 높아짐을 관찰할 수 있었다. 또한 tape stripping을 통한 각질량 분석에서는 stripping을 거듭할수록 채취되는 각질량도 감소되는 양상을 보여주었다. 본 연구를 통해 수 ~ 수십 층으로 구성되는 각질층 중 윗부분은 수분량에, 아래 부분은 장벽으로서의 기능에 있어 역할을 하고 있음을 알 수 있었고 각질층의 깊이가 증가할수록 pH와 각질량은 감소함을 알 수 있었다. 이러한 각질층 내의 위치 차이에 따른 역할에 대한 결과를 통해 화장품 개발에 있어서 다양한 접근이 가능할 것으로 기대되어진다. 또한 본 연구를 통해 각질층도 그 위치에 따라 다른 역할을 담당하고 있음을 간접적으로 알 수 있었고 향후 이러한 점에 초점을 맞춘 특화된 각질 연구도 필요할 것으로 생각되어진다.

Abstract: The skin barrier function is one of the vital functions. Horny layer and epidermis among various skin layers play an important role in protecting body from environmental insults. Stratum corneum is completely formed by differentiation processes from the basal layer and newly formed corneocytes push the older ones from skin surface. In this study, we investigated changes of various parameters - capacitance, transepidermal water loss (TEWL), pH and amount of removed corneocytes - according to the stratum corneum's depth. We removed the stratum corneum using tape stripping technique. We found that uppermost stratum corneum play an important role in skin surface moisturization and lower stratum corneum in protecting transepidermal water loss. In addition, skin pH is more acidic than surface pH. In the stratum corneum, skin pH is more acidic in the deeper layer. Furthermore amount of removed corneocyte is also decreased according to depth because of stronger cell-cell union strength. From these results we suggest that stratum corneum has different characteristics depending on their position.

Keywords: stratum corneum, depth, capacitance, TEWL, pH

[†] 주 저자 (e-mail: shkim1228@amorepacific.com)

1. 서 론

피부는 생체와 외부 환경 사이에 경계를 형성하고 외부로부터 생체를 보호하며 항상성을 유지하고 생명활동이 지속되도록 하는 작용을 한다[1,2]. 이러한 여러 기능들 중 장벽으로서의 피부의 작용은 피부 표면의 각질층과 표피의 작용으로 집약할 수 있다.

각질층은 표피의 밑에서부터 분화의 과정을 거쳐 피부 표면에서 완성되고 오래된 각질들은 지속적으로 아래 부분에서 형성되어 올라오는 새로운 각질로 대체되어 건강한 방어막을 형성하게 된다[2,3].

이들 각질 안에는 수분 함유력이 뛰어난 natural moisturizing factor (NMF)들과 꿀격을 형성하는 많은 keratin이 존재하고 있다. 이러한 각질은 표피의 밀층에 있는 세포가 정상적인 분화과정을 거쳐 위의 각질층으로 이동될 때만 NMF와 각질이 정상적으로 형성되게 된다. 만약 이 과정에 외부/내부 영향으로 인해 손상이 오게 되면 정상적인 기능을 가진 각질은 형성되지 못하게 된다. 또한 시멘트 역할을 하는 세포 간 지질은 ceramide, cholesterol, free fatty acid 등 다양한 지질 성분들의 혼합물인데 이 역시 세포가 아래층에서 위층으로 분화되어 이동하면서 정상적인 분화과정을 겪을 때만 그 양과 종류의 비율 등이 최적으로 형성되어 각질세포 사이를 잘 메꾸어 주고 이들을 잘 묶어주는 건강한 지질 혼합물이 형성되게 한다.

이렇게 형성된 건강한 표면의 방어막은 외부의 자극원 및 환경에 대한 강한 방어작용과 내부의 수분 등 물질의 유출을 막는 기능을 하게 된다. 이러한 각질층은 피부 최외각에서 적개는 수 층에서 많게는 수 십층으로 존재하고 있다.

현재까지 여러 연구 그룹들에 의해 급성 장벽 손상 후 부위에 따른 각종 parameter (TEWL, capacitance)들의 변화, 인종에 따른 pH gradient의 변화, 외부로부터 다양한 pH 도포에 따른 영향 및 각질/표피층에 존재하는 protease들의 종류/활성 등에 관한 다양한 연구 등이 진행되어 오고 있으며 이러한 연구에 있어 tape stripping 및 유기 용매 처리, 계면활성제 등의 여러 barrier disruption 방법으로 각질 일부분을 제거하는 연구 또한 꾸준히 진행되어 오고 있다[1-11].

Tape stripping은 stratum corneum의 여러 층들의 화학적/물리적 특성을 연구하는 중요한 수단 중 하나로 adhesive tape의 반복 사용에 의해 stratum corneum은 연속적으로 제거될 수 있게 된다[1-3,5,10,12,13,15,16]. 이러한 과정은 일반적으로 SC tape stripping으로 알려져 있고 tape의 접착력, 접착 시간, 접착시 가해지는 압력 등에 의해 그 정도에 차이를 유발하고 있다[14].

Tape stripping을 통한 연구 중에는 크게 tape을 이용하여 채취된 양을 측정하는 방법을 연구하는 부분과 채취된 각질 속의 여러 인자들의 변화를 살펴보거나 본 연구에서와 같이 각질의 제거에 의해 피부 관련 parameter들이 변화하는 정도를 측정하는 방법 등으로 나누어 볼 수 있다[1-3,5,10,12,13,15,16].

본 연구에서는 Cuderm® corporation에서 생산하는 D-sqame® disk를 이용하여 각질층 깊이에 따른 수분량의 변화와 수분증발량의 변화, pH의 변화 및 각질량의 변화를 살펴보았으며 이를 통해 각 측정 항목들의 각질층에서의 의미에 대해 살펴보았다.

2. 실험방법

2.1. 연구대상

24 ~ 34세(29.9 ± 3.6)의 건강한 피부를 가진 피험자 10명(남 1명, 여 9명)을 대상으로 실시하였으며 시험 부위는 전박 부위로 한정하였다.

2.2. 연구방법 및 재료

각 피험자는 비누를 이용하여 전박 부위를 씻은 후 항온항습조건(온도 25 ± 2 °C, 상대 습도 40 ± 2 %)에서 15 min 동안 시험부위를 안정화 시킨 다음 실험을 진행하였다. Tape stripping은 Cuderm® corporation에서 생산하는 D-sqame® disk를 이용하였다. D-sqame®를 이용하여 각질을 제거하기 전, 수분량, 수분 증발량, 피부표면 pH의 초기 값을 측정하였고 1회 stripping 시 1개의 D-sqame®를 이용하여 각질 채취를 하였다. 연속적으로 30회 stripping을 하였으며 5, 10, 20, 30회 stripping 시점에서 수분량 및 수분증발량을 측정하였고 30회 stripping 시점에서 pH를 측정하였다. Stripping 된 D-sqame® 중 5, 10, 20, 30회의 것을 사용하여 각질량 분석을 실시하였다.

2.3. 수분량 측정

수분량은 capacitance를 측정원리로 갖는 Corneometer CM825 (Courage + Khazaka Electronic GmbH, Köln, Germany)를 이용하였고 2.2. 연구방법 및 재료에서 설명한 시점에 측정하였다.

2.4. 수분증발량 측정

TEWL은 closed type의 probe를 갖는 Vapometer SWL - 3002 (Delfin, Finland)를 이용하였고 2.2. 연구방법 및 재료에서 설명한 시점에 측정하였다.

2.5. 피부표면 pH 측정

피부표면 pH는 Skin pHmeter PM910 (Courage +

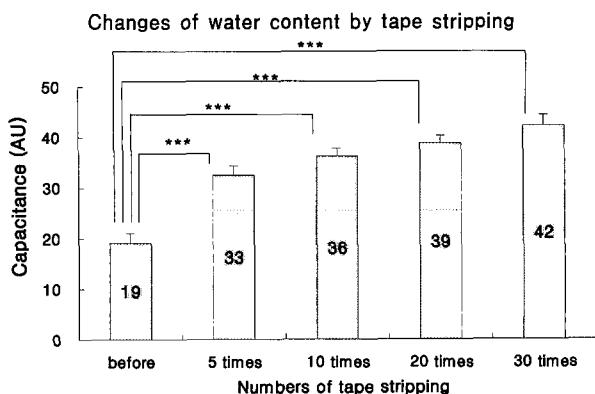


Figure 1. Water content changes according to tape stripping times (paired *t*-test, *** p < 0.001, error bar : standard error).

Khazaka Electronic GmbH, Köln, Germany)를 이용하였고 2.2. 연구방법 및 재료에서 설명한 시점에 측정하였다.

2.6. 각질량 분석

D-squame[®]로 포집한 각질은 컴퓨터와 연결된 Hi-scope (Hirox, Japan)로 40배 디지털 사진을 촬영하였고, 이를 BMI image analysis software (WINaTech, USA)를 이용하여 각질의 면적을 pixel 값으로 계산하였다.

2.7. 통계분석

데이터 분석은 SPSS package program (SPSS, Inc., Chicago, IL)을 사용하여 수행하였으며 모든 실험 결과는 평균 ± 표준오차로 표기하였다. 통계적 유의성은 paired *t*-test로 하였으며 p < 0.05 미만일 때 통계적으로 유의하다고 판단하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 각질층 제거가 수분량에 미치는 영향

Tape stripping 회수에 따른 수분량의 변화를 살펴보면 초기값 대비 5, 10, 20, 30회 strip 시점 모두에서 통계적으로 유의하게 수분량이 증가하였다(paired *t*-test, p < 0.05). 이는 2002년 Fluhr의 연구 결과와 부합하는 결과로, Fluhr는 20회의 tape stripping을 통한 장벽 손상에 의해 수분량이 증가되는 결과를 발표하였다[8].

수분량의 증가 폭을 살펴보면 5회 strip까지 capacitance 값이 약 24 AU 정도가 증가한 반면 이후 5 ~ 10 strip의 경우 3 AU 정도, 10 ~ 20 strip의 경우 역시 3 AU 정도, 20 ~ 30 strip 역시 3 AU 정도로 그 증가 폭이 현저히 감소하였다(Figure 1).

이와 같은 사실을 볼 때, 피부 표면 수분량에 있어서는

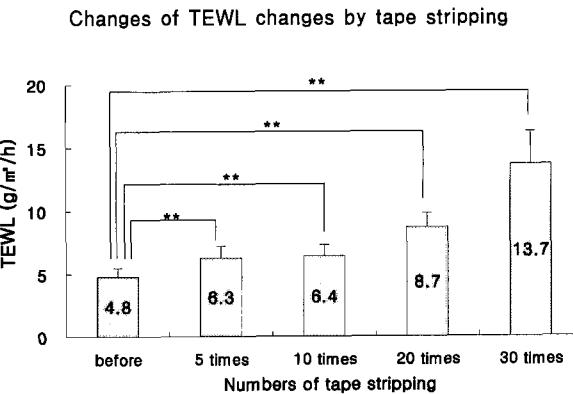


Figure 2. TEWL changes according to tape stripping times (paired *t*-test, ** p < 0.01, error bar : standard error).

각질층 중 위쪽에 위치하고 있는 uppermost SC가 중요한 역할을 하는 것으로 생각되어지며 이는 표피가 분화 과정을 거치는 동안 pro-form에서 proteolysis되어 성숙한 NMF를 형성하여 피부 표면의 각질 수분량 유지에 역할을 하고 있음을 간접적으로 보여 주는 예라 할 수 있을 것으로 판단되어진다.

즉, 이와 같은 결과에 근거할 때, 수분량 증가를 주요 목적으로 하는 화장품의 경우, 각질층 중에서도 윗부분의 각질의 수분량 증가에 초점을 맞추는 것이 바람직할 것으로 생각되어진다.

3.2. 각질층 제거가 수분증발량에 미치는 영향

Stripping에 따른 TEWL의 변화를 살펴본 결과, 초기값 대비 5, 10, 20, 30회 strip 시점에서 모두 통계적으로 유의하게 TEWL이 증가하였다(paired *t*-test, p < 0.05).

TEWL의 증가 폭을 살펴보면, 앞선 수분량의 결과와는 대조적으로 5회 strip 까지 약 1.5 g/m²/h를 보이고 5 ~ 10 strip에서는 약 0.1 g/m²/h, 10 ~ 20 strip의 경우는 약 2.3 g/m²/h의 증가를 보였으나 20 ~ 30 strip에서는 약 5.0 g/m²/h의 급격한 TEWL 증가 양상을 보여주었다 (Figure 2).

이는 표피로부터 수분 증발을 억제하는 피부 장벽의 기능은 lower SC에서 주로 역할을 하고 있음을 나타내주고 있다. 이와 같이 strip 횟수가 증가함에 따라 TEWL이 급격히 증가하는 결과는 지난 1990년 Vander Valk과 2001년 Bashir의 발표 논문에서도 찾아 볼 수 있다[3,7].

이들 결과는 표피가 각질층으로 분화하고 이후 desquamation 과정을 거치면서 cell-cell interaction이 감소되는 즉, 세포간 틈이 쉽게 벌어져 장벽으로서의 역할이 약해지게 될 수 있다는 추측도 가능하게 해 주고 있다[9]. Lower SC에는 tight한 결합이 형성되고 upper로 이동하

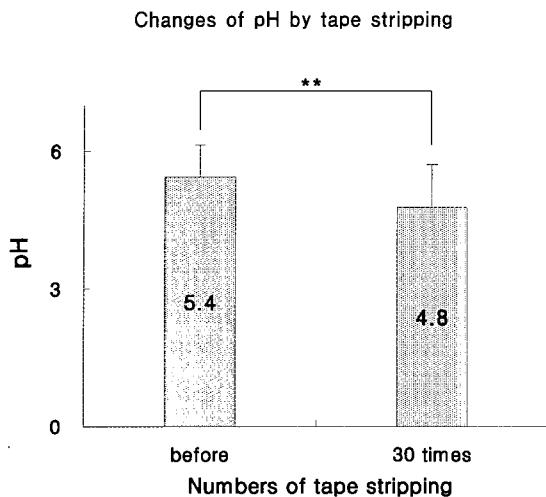


Figure 3. pH changes according to tape stripping times (paired *t*-test, ** $p < 0.01$, error bar : standard error).

면서 protease들의 작용에 의해 결합이 약해짐을 간접적으로 보여주고 있다.

이러한 결과에 근거할 때, 피부 장벽 기능의 개선을 위한 접근은 표면에 occlusive 한 특성의 제품 사용도 중요하지만 내적 인자 기능 향상 측면에서 이를 총의 기능을 강화해 줄 수 있는 예를 들면, 정상적 분화촉진을 통한 장벽기능 강화라는 접근이 더 설득력이 있고 이런 장벽 강화의 화장품의 경우 분화 및 세포 간 결합을 증진시켜 줄 수 있는 접근이 더 합리적일 것으로 생각되어진다.

3.3. 각질층 제거가 피부표면 pH에 미치는 영향

pH는 측정시 수분이 피부에 닿게 되므로 다른 측정인자들에 대한 영향을 고려하여 초기와 마지막 치치 후인 strip 전과 30 strip 후 Skin pHmeter PM910 (Courage + Khazaka Electronic GmbH, Köln, Germany)을 이용하여 측정하였고, 그 결과 strip 전 약 5.4의 값을 보였고 30회 strip 후 4.8로 약 0.6 정도 통계적으로 유의하게 높아진 산도를 보였다($p < 0.05$). 일반적으로 각질층의 pH는 5.5로 알려져 있고 표피층인 아래층으로 내려갈수록 중성으로 pH 증가 된다고 보고되어 있으나 각질층만을 대상으로 수행한 본 연구에서는 각질층의 깊이가 증가함에 따라 pH가 내려가는 결과가 나타났다(Figure 3). 문헌 조사 통해 살펴본 결과 1998년 Maibach, 2002년 Fluhr가 발표한 논문에서 유사한 결과를 발견할 수 있었다[6,8].

피부의 pH는 protease의 활성 등에 중요한 역할을 하며 아토피와 같은 질환에 있어서도 중요한 접근 포인트가 되고 있다. 이러한 결과는 optimal pH를 산성으로 갖는 cathepsin D의 활성과 연관이 있는 것으로 보이며 향후 중성 pH를 갖는 아토피 같은 질환에 있어 외부 pH

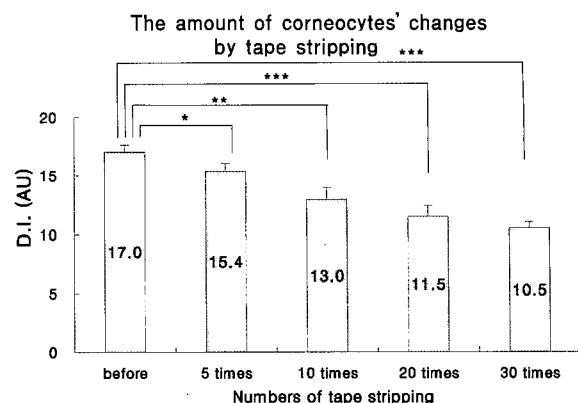


Figure 4. The amount of corneocytes' changes according to tape stripping times (paired *t*-test, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, error bar : standard error).

제형의 도포 및 protease 활성 연구 등도 중요한 연구 분야 중 하나가 될 것으로 보인다[9,11,18,19].

3.4. Tape Stripping에 따른 각질량의 변화

Stripping 과정에서 D-squame[®]에 포함된 각질의 양을 컴퓨터와 연결된 Hi-scope (Hirox, Japan)로 40배 디지털 사진을 촬영하고, 이를 BMI image analysis software (WINaTech, USA)를 이용하여 각질의 면적을 계산하였다. Strip 횟수가 증가함에 따라 포함되는 각질의 양은 초기값에 비하여 통계적으로 유의하게 감소하였다(Figure 4).

4. 결 론

피부의 최외각을 이루는 각질층은 수 ~ 수십개의 층으로 구성되어 있고 외부환경으로부터의 피부를 보호하고 표피 수분을 유지시켜 주며, 수분 증발을 억제 등 여러 중요한 기능을 담당하고 있다[1-3,5].

본 연구에서는 tape을 이용하여 물리적으로 각질층을 빼어 내면서 수분량, 수분증발량, pH, 각질량의 변화를 살펴보고 이를 화장품 제품 개발에 활용하고자 하였다.

본 연구를 통해 피부 표면 수분량은 각질층 중 위쪽에 있는 uppermost SC가 중요한 역할을 하는 것으로 나타났고 이는 표피가 분화과정을 거치는 동안 pro-form에서 proteolysis 되어 성숙한 NMF를 형성하여 피부 표면의 각질 수분량 유지에 역할을 하고 있음을 간접적으로 보여 주는 결과라 생각되어진다. 수분량 증가를 주요 목적으로 하는 화장품의 경우, 각질층 중에서도 uppermost SC의 수분량 증가에 초점을 맞추는 것이 바람직할 것으로 생각되어진다.

Stripping 수에 따른 TEWL의 변화를 살펴본 결과, 수

분 증발을 억제하는 피부 장벽의 기능은 lower SC에서 주로 역할을 하고 있음을 알 수 있었고 이러한 결과에 근거할 때, 피부 장벽 기능의 개선을 위한 접근은 표면에 막을 형성하는 occlusive 한 특성의 제품 사용도 중요하지만 내적 인자 기능 향상 측면에서 이들 층의 기능을 강화해 줄 수 있는 접근이 더 합리적일 것으로 생각되어 진다.

pH의 경우, strip 전 약 5.4의 값을 보였고 30회 strip 후 4.8로 약 0.6 정도 통계적으로 유의하게 낮아진 pH를 보였다($p < 0.05$). 각질층을 벗어나 아래층으로 내려갈수록 중성의 pH를 갖게 되나 본 실험에서처럼 각질층만을 고려했을 때 lower SC로 갈수록 pH가 낮아짐을 알 수 있었다. 피부의 pH는 protease의 활성 등에 중요한 역할을 하며 아토피와 같은 질환에 있어서도 중요한 접근 포인트가 되고 있다. 이러한 결과는 optimal pH를 산성으로 갖는 protease인 cathepsin D의 활성과 연관이 있을 것으로 보여지고 향후 중성 pH를 갖는 아토피 같은 질환에 있어 외부 pH 제형의 도포 및 protease 활성 연구 등도 중요한 연구 분야 중 하나가 될 것으로 생각되어진다.

Strip 횟수가 증가함에 따라 포집되는 각질의 양은 초기값에 비하여 통계적으로 유의하게 줄어들었고 이와 같은 현상은 각질층 안쪽으로 갈수록 corneodesmosome의 응집력이 강하여 채취되는 각질량이 점차 감소한 결과로 생각되어진다[17].

본 연구를 통해 각질층도 그 위치에 따라 다른 역할을 담당하고 있음을 간접적으로 알 수 있었고 향후 이러한 점에 초점을 맞춘 특화된 각질 연구도 필요할 것으로 생각되어진다.

참 고 문 현

- F. Dreher, A. Arens, J. J. Hostynck, S. Mudumba, J. Ademola, and H. I. Maibach, Colorimetric method for quantifying human stratum corneum removed by adhesive-tape-stripping, *Acta Derm Venereol*. (Stockh), **78**, 186 (1998).
- T. Horikoshi, S. Igarashi, H. Uchiwa, H. Brysk, and M. M. Brysk, Role of endogenous cathepsin D-like and chymotrypsin-like proteolysis in human epidermal desquamation, *Br. J. Dermatol.*, **141**, 453 (1999).
- P. G. M. Vander Valk, and H. I. Maibach, A functional study of the skin barrier to evaporative water loss by means of repeated cellophane-tape stripping, *Clin. Exp. Dermatol.*, **15**, 180 (1990).
- Y. Suzuki, J. Nomura, J. Hori, J. Koyama, M. Takahashi, and I. Horii, Detection and characterization of endogenous protease associated with desquamation of stratum corneum, *Arch. Dermatol. Res.*, **285**, 372 (1993).
- H. Ohman and A. Vahlquist, In vivo studies concerning a pH gradient in human stratum corneum and upper epidermis, *Acta Derm Venereol*. (Stockh), **74**, 375 (1994).
- E. Berardesca, F. Pirot, M. Singh, and H. Maibach, Differences in stratum corneum pH gradient when comparing white caucasian and black African-American skin, *Br. J. Dermatol.*, **139**, 855 (1998).
- S. J. Bashir, A. L. Chew, A. Anigbogu, F. Dreher, and H. I. Maibach, Physical and physiological effects of stratum corneum tape stripping, *Skin Res. Techol.*, **7**, 40 (2001).
- J. W. Fluhr, H. Dickel, O. Kuss, I. Weyher, T. L. Diepgen, and E. Berardesca, Impact of anatomical location on barrier recovery, surface pH and stratum corneum hydration after acute barrier disruption, *Br. J. Dermatol.*, **146**, 770 (2002).
- J. P. Hachem, D. Crumrine, J. Fluhr, B. E. Brown, K. R. Feingold, and P. M. Elias, pH directly regulates epidermal permeability barrier homeostasis and stratum corneum integrity/cohesion, *J. Invest. Dermatol.*, **121**, 345 (2003).
- H. J. Weigmann, U. Lindemann, C. Antoniou, G. N. Tsikrikas, A. I. Stratigos, A. katsambas, W. Sterry, and J. Lademann, UV/VIS absorbance allows rapid, accurate, and reproducible mass determination of corneocytes removed by tape stripping, *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.*, **16**, 217 (2003).
- T. Horikoshi, M. Matsumoto, A. Usuki, S. Igarashi, R. Hikima, H. Uchiwa, S. Hayashi, M. M. Brysk, M. Ichihashi, and Y. Funasaka, Effects of glycolic acid on desquamation-regulating proteinase in human stratum corneum, *Exp. Dermatol.*, **14**, 34 (2005).
- U. Lindemann, H. J. Weigmann, H. Schaefer, W. Sterry, and J. Lademann, Evaluation of the pseudo-absorption method to quantify human stratum corneum removed by tape stripping using protein absorption, *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.*, **16**, 228 (2003).
- U. Lindemann, K. Wilken, H. J. Weigmann, H. Schaefer, W. Sterry, and J. Lademann, Quantification

- of the horny layer using tape stripping and microscopic techniques, *J. Biomed. Opt.*, **8**(4), 601 (2003).
14. H. Loffler, F. Dreher, and H. I. Maibach, Stratum corneum adhesive tape stripping : influence of anatomical site, application pressure, duration and removal, *Br. J. Dermatol.*, **151**, 746 (2004).
15. U. Jacobi, H. J. Weigmann, J. Ulrich, W. Sterry, and J. Lademann, Estimation of the relative stratum corneum amount removed by tape stripping, *Skin Res. Technol.*, **11**, 91 (2005).
16. F. Dreher, B. S. Modjtahedi, S. P. Modjtahedi, and H. I. Maibach, Quantification of stratum corneum removal by adhesive tape stripping by total protein assay in 96-well microplates, *Skin Res. Technol.*, **11**, 97 (2005).
17. Y. Kitajima, Mechanisms of desmosome assembly and disassembly, *Clin. Exp. Dermatol.*, **27**, 684 (2002).
18. J. P. Hachem, M. Behne, I. Aronchik, M. Demerjian, K. R. Feingold, P. M. Elias, and T. M. Mauro, Extracellular pH controls NHE1 expression in epidermis and keratinocytes : implications for barrier repair, *J. Invest. Dermatol.*, **125**, 790 (2005).
19. H. Lambers, S. Piessens, A. Bloem, H. Pronk, and P. Finkel, Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora, *Int. J. Cosmet. Sci.*, **28**, 359 (2006).