

## 각질세포 내 멜라닌 정량과 피부색의 비교 연구

곽택종·장민열<sup>†</sup>·이상민·박선규·박수남\*

(주)LG생활건강 기술연구원, \*서울과학기술대학교 그린코스메틱연구개발센터  
(2010년 8월 27일 접수, 2010년 9월 7일 수정, 2010년 9월 15일 채택)

### Comparative Study of Melanin Content in Corneocyte with Skin Color

Taek-jong Kwak, Min-young Chang<sup>†</sup>, Sang-min Lee, Sun-kyoo Park, and Soo Nam Park\*

LG Household and Health Care Co. Ltd./Research Park, 84, Jang-Dong, Yuseong-Gu, Daejeon 305-343, Korea

\*Research Center for Development of Green Cosmetic, Seoul National University of Science and Technology

(Received August 27, 2010; Revised September 7, 2010; Accepted September 15, 2010)

**요약:** 사람의 피부색에 결정적인 영향을 미치는 멜라닌은 표피 기저층의 멜라닌형성세포(Melanocyte)에 의해 생성되어 피부 전반에 분포하고 있으며, 표피의 가장 외각인 각질층에서도 멜라닌은 존재하고 있다. 이러한 각질세포 내 멜라닌과 피부색과의 관계를 알아보려고 각질세포 내 멜라닌의 선택적 염색(Fontana-Masson method) 및 영상분석을 통한 정량적 평가법을 확립하였고, 각질세포 내 멜라닌 양과 색차계를 통한 피부색과의 상관관계를 조사하였다. 71명의 여성 피시험자를 대상으로 색차계를 이용한 피부색과 동일부위의 각질세포에 함유된 멜라닌을 정량하여 비교하였을 때, 각질세포 내 멜라닌이 차지하는 면적을 나타내는 MCA (Melanin covering area) 값이 피부색의 L\* 값, ITA° (Individual Typology Angle) 값과 비교적 높은 상관관계를 보였다(각각  $r = 0.6049$ ,  $r = 0.6651$ ). 이러한 결과를 통해 각질세포 내 멜라닌 양이 피부색 분류의 새로운 기준이 될 수 있는 가능성을 확인했으며, MCA 값에 따라 새로운 피부색을 분류하는 기준을 제시할 수 있었다. 본 실험을 통해, 각질세포 내 멜라닌 정량법의 개발과 멜라닌 양에 따른 새로운 피부색 분류 기준을 세울 수 있었으며 개발된 각질세포 내 멜라닌 정량법은 향후 새로운 *in vivo* 미백 평가 및 피부 색상과 관련된 여러 분야에서 매우 유용하게 이용될 수 있을 것이다.

**Abstract:** Melanin is synthesized by the melanocytes in basal layer of epidermis and distributed over all the layers of skin including corneocytes in stratum corneum, outermost layer of the epidermis. Melanin of corneocytes was stained using Fontana-Masson method and quantified by image analysis. The correlation between melanin contents and skin color value was estimated in the skin of 71 Korean women. Melanin covering area (MCA) showed good correlation with L\* value and ITA° (Individual Typology Angle) ( $r = 0.6049$ ,  $0.6651$ , respectively). MCA can be used as new parameter for skin color study and has potential application for evaluating the efficacy of the skin whitening cosmetics.

**Keywords:** melanin, corneocyte, Fontana-Mason, skin color, melanin covering area (MCA)

## 1. 서 론

사람의 피부색은 적색, 노란색, 갈색 또는 푸른색의 색조를 모두 띠고 있다[1]. 붉은 색은 주로 산화된 헤모글로빈(oxygenated hemoglobin)에 의하고, 노란색은 카로

티노이드(carotenoid)라는 색소에 의하며, 푸른색은 정맥 속의 환원된 헤모글로빈(reduced hemoglobin)에 의하고, 갈색(brown color)은 주로 멜라닌형성세포(melanocyte)에서 생산된 멜라닌(melanin)에 의한다. 따라서 피부색이라는 것은 멜라닌, 헤모글로빈, 카로티노이드, 그리고 각질층 상태 등의 조합에 의해 최종적으로 결정된다[1]. 그 밖에 사람의 피부색에 영향을 줄 수 있는 것에

<sup>†</sup> 주 저자 (e-mail: myjang@lgcare.com)

는 각질층의 두께나 수화상태, 혈액의 양이나 혈중 산소의 양, 세포간의 접촉상태 등이 있다[1]. 박편의 피부(flaky skin)는 빛을 잘 흡수하지 못하므로 같은 색일지라도 좀 더 하얗고 밝게 보이는 경우가 그 한 예이다.

멜라닌은 이러한 사람의 피부색을 결정하는 요인들 중에서 가장 중요한 색소로 알려져 있으며, 또한 자외선에 의해 피부가 손상되는 것을 방어하는 작용도 한다. 피부 내 멜라닌 생성정도에 따라 피부암(skin cancer)의 발생 빈도가 달라진다는 보고는 멜라닌의 피부보호 기능과 관련이 있다[2,3]. 즉 검은 피부일수록 태양 자외선에 의한 피부암의 발생이 하얀 피부에 비해 적게 발생된다. 멜라닌은 피부색에 영향을 미치면서 피부 보호를 위해서도 중요한 역할을 하고 있다.

멜라닌은 표피의 기저세포층에 존재하는 멜라닌형성세포(melanocyte) 내의 소기관인 멜라노솜(melanosome)에서 합성되어 멜라닌형성세포의 수직상 돌기를 통하여 인접한 각질형성세포(keratinocyte)로 이동된다. 각질형성세포 내에 존재하는 멜라닌 색소는 각질형성세포의 분화 정도에 따라 표피로 이동되며 각질이 박리되면서 비로소 피부에서 떨어져 나가게 된다[3,4]. 인종에 따라 다르게 보이는 피부색은 멜라닌형성세포의 멜라노솜 생성능과 표피로 이동된 멜라노솜(멜라닌)의 수, 성숙도 및 존재양식에 의해 그 차이가 생기게 된다. 즉, 흑인의 멜라노솜은 비교적 크고, 단일체(single melanosome)이며, 각질층으로 이동되는 동안 쉽게 변성되지 않는다. 반면 백인의 것은 비교적 작은 멜라노솜들이 모여서 복합체를 이루고 있으며(multiple melanosome), 외각층(surface)으로 이동되는 동안 lysosome 등에 의해 영향을 받게 된다[1,3]. 따라서 흑인은 완전한 멜라노솜을 각질층 내에 가지고 있어 보다 효과적으로 피부 보호를 하고 있고, 그에 비해 백인은 비교적 적은 양의 멜라노솜으로 인해 흑인만큼 피부 보호기능이 효과적이지 않다. 피부암의 발생 빈도를 통해서도 그 차이를 알 수 있다[3].

각질형성세포의 분화 최종 단계인 각질세포(corneocyte) 내에서도 멜라닌은 존재하고 있다. Lu 등은 이러한 각질세포 내의 멜라닌 분포가 Fitzpatrick의 피부타입 분류와 매우 밀접한 상관관계가 있음을 보고하였다[2]. 즉 자외선에 의한 피부 색소 침착이나 태닝(tanning)의 정도는 각질세포 내 멜라닌 양과 매우 높은 관계가 있다는 의미이다. Lu 등은 각질세포 내 멜라닌 양을 평가하기 위한 척도로 melanin content index (MCI)라는 개념을 이용하였는데, 이는 전체 각질세포에서 멜라닌을 함유하는 각질세포의 비율을 의미하며, 실제 각질세포 내에 존재

하고 있는 멜라닌의 실제 양을 의미하는 것은 아니다.

기존 연구로 각질세포 내 멜라닌 양이 피부색과 밀접한 관계가 있다는 것은 알 수 있지만 각질세포 내 멜라닌 양을 정량적으로 측정할 수 있는 객관적인 평가법은 확보되어 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 각질세포 내 멜라닌의 양을 객관적으로 평가할 수 있는 평가방법을 확립하고 그 평가법을 이용하여 측정된 각질세포 내 멜라닌 양과 색차계 측정을 통한 피부색과의 상관관계를 알아보고자 실험을 수행하였다.

## 2. 재료 및 실험

### 2.1. 각질세포 내 멜라닌의 염색

먼저 색차계(CR-300, Minolta, Japan)를 이용하여 손등 및 얼굴 뺨 부위의 피부색을 측정한 후 D-squame tape (D100, CuDerm, USA)를 이용하여 동일 부위의 각질세포를 채취하였고, 그 각질세포를 슬라이드 위에 고정된 다음 Fontana-Masson 염색법을 이용하여 각질세포 내 멜라닌에 대한 선택적인 염색을 실시하였다. 본 연구에 사용된 Fontana-Masson 염색법은 Table 1에 간략히 기술하였다.

### 2.2. 멜라닌 양의 정량화

염색된 멜라닌을 광학 현미경(Metallux 3, Leitz, USA)과 CCD 카메라, 그리고 영상 분석 프로그램(Image-Pro plus, MediaCybernetics, USA)을 이용하여 각질세포 내에 존재하는 멜라닌을 정량화하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 각질세포 내 멜라닌 양의 정량화

#### 3.1.1. 운전자의 좌우 손등 비교

각질세포 내 멜라닌의 염색을 이용한 정량화의 가능성을 확인하기 위하여 우선 자가 운전자 5명의 양쪽 손에서 피부색과 멜라닌 양의 차이를 각각 비교해 보았다.

일반적으로 운전할 때 항상 햇빛에 노출되어 있는 왼쪽 손은 오른쪽 손에 비해 다소 피부가 검다. 이 차이는 육안적으로 확인할 수 있으며, 운전자 5명에 대해 색차계를 통한 측정에서도 각각  $L^*$  값이 61.57과 65.47로 통계적으로 유의한 차이를 확인할 수 있었다( $p < 0.05$ ). 이러한 차이를 각질세포 내 멜라닌 양을 이용하여 비교해 보았다.

Figure 1의 결과에서 확인할 수 있듯이 좌우 손등에서

**Table 1.** Fontana-Masson Silver Method (Melanin)

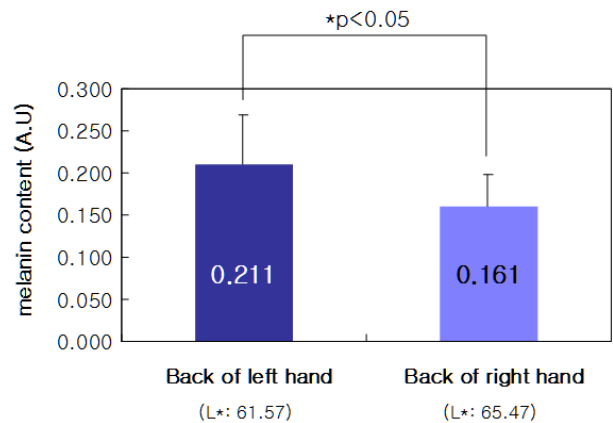
Items	Contents
Purpose	A positive argentaffin reaction means the cells take-up silver and then reduce it to a visible metallic state, without the aid of a reducing agent
Reagents	<ol style="list-style-type: none"> <li>Ammoniacal Silver Stock Solution : 10 % Silver Nitrate 25 mL &amp; add ammonium hydroxide drop by drop, until solution precipitates and clears again</li> <li>Ammoniacal Silver Working Solution : Ammoniacal Silver Stock Solution 12.5 mL Distilled water 37.5 mL</li> <li>0.1 % Gold Chloride</li> <li>5 % Hypo</li> <li>Nuclear-Fast Red</li> </ol>
Procedure	<ol style="list-style-type: none"> <li>Deparaffinize and hydrate to distilled water.</li> <li>Working Silver Solution, microwave 20 power, 2 min. Check slides microscopically for adequate intensity, place in microwave a few seconds longer if needed.</li> <li>Rinse in distilled water.</li> <li>0.1 % Gold chloride, 10 min.</li> <li>Rinse in distilled water.</li> <li>5 % Hypo, five min.</li> <li>Wash in tap water, rinse in distilled.</li> <li>Nuclear-fast red, 5 min.</li> <li>Wash in tap water.</li> <li>Dehydrate, clear, and coverslip. (Place in 60 °C oven for 1 h)</li> </ol>

측정한 각질세포 내 멜라닌 양은 각각 0.211과 0.161이었으며, 이 결과는 이분산 가정 t-검정에서 유의함이 있었다( $p < 0.05$ ). 이는 곧 육안으로 구별이 되는 피부색의 차이가 각질세포 내 멜라닌 양과 밀접한 관계가 있음을 시사해 주고 있다. 즉 햇빛에 많이 노출된 피부가 다소 검게 보이는 이유 중의 하나로 멜라닌 양의 증가가 관여하고 있음을 유추할 수 있다.

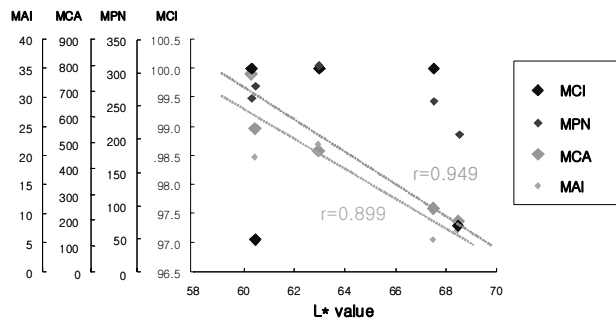
3.1.2. 각질세포 멜라닌 정량화 파라미터 비교

5명의 피부색이 다른 피험자를 대상으로 색차계(CR-300, Minolta, Japan)를 이용하여 얼굴 뺨 부위의 피부색을 측정하였고, 측정된 동일 부위에서 D-squame tape (D100, CuDerm, USA)를 이용, 각질세포를 채취하여 각질세포 내 멜라닌의 염색을 실시한 후 영상분석을 통해 멜라닌 양을 정량화하여 비교하였다.

영상분석을 통한 멜라닌 정량방법에는 여러 가지가 있



**Figure 1.** Comparison of melanin content and skin color between the right and left hand of drivers.



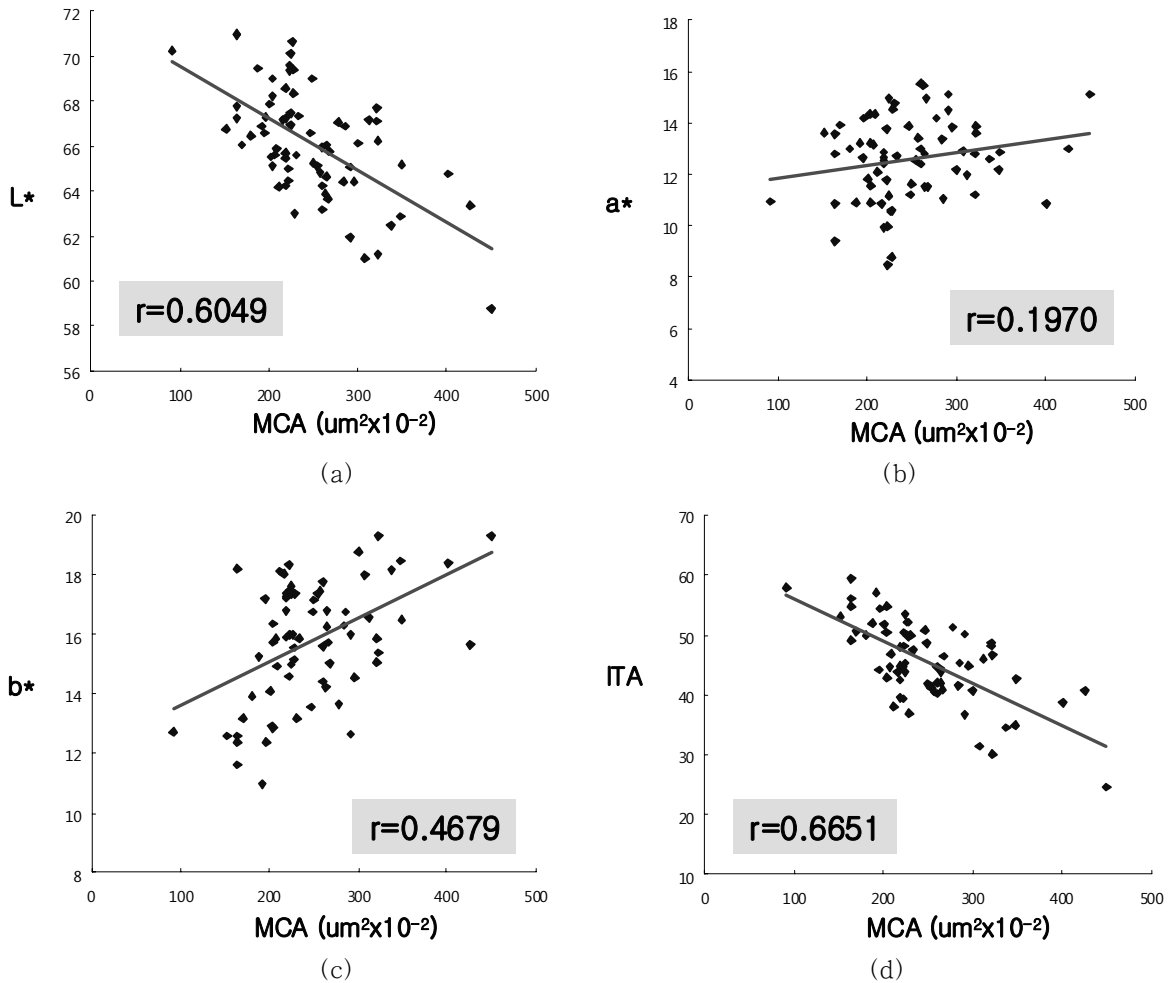
**Figure 2.** Correlation between L\* value and various melanin parameters.

어 Lu[2]가 사용했던 MCI값을 비롯해서 4가지 파라미터로 멜라닌 양의 정량화를 시도하였다(Table 2).

상기 결과를 보았을 때 피부색의 밝기를 나타내는 L\* 값과 상관관계가 높은 파라미터는 MCA (melanin covering area)와 MAI (melanin area & intensity)로 나타났다(Figure 2). 이 중 MAI는 각질세포 내의 멜라닌이 차지하고 있는 면적(area)과 각 멜라닌 입자의 진하기(intensity)를 고려하여 측정된 파라미터로 L값과 비교적 높은 상관관계( $r = 0.899$ )를 보였으나 실제 실험과정에서 이 진하기가 실제 멜라닌 입자의 진하기 외에도 현미경과 CCD카메라로 영상을 획득할 때 초점이 맞는 정도에 의해서도 영향을 받는 것으로 나타나 재현성에 문제가 있다고 판단하게 되었다. 이에 최종적으로 4가지 후보 파라미터 중 MCA를 각질세포 내 멜라닌을 정량적으로 판단하기 위한 파라미터로 선정하게 되었으며 MCA는 피부색 L\*값과 가장 높은 상관관계( $r = 0.949$ )를 나타내었다.

**Table 2.** Parameters for Quantifying the Amount of Melanin in Corneocyte

Parameter	Description	Unit	Ref.
MCI (melanin content index)	Ratio of the corneocytes containing melanin	%	Lu[2]
MPN (melanin particle number)	Average number of melanin particle per corneocyte	Ea.	Newly proposed
MCA (melanin content area)	Average covering area of melanin in corneocyte	$\mu\text{m}^2 \times 10^2$	Newly proposed
MAI (melanin area & intensity)	Covering area $\times$ Intensity of melanin in corneocyte	A.U.	Newly proposed



**Figure 3.** Correlation between MCA and various skin color parameters.

3.2. 색차계 측정값과 각질세포 내 멜라닌 양의 상관관계

본 연구를 통해 찾아낸 각질세포 내 멜라닌 양과 피부 색과의 상관관계를 좀 더 정확히 확인하고자 피시험자 수를 71명으로 늘려 색차계 측정값과 MCA 파라미터와의 상관관계를 알아보았다. 먼저 얼굴 뺨 부위의 피부색을 색차계(CR-300, Minolta, Japan)를 이용하여 측정하였고, 동일 부위의 각질세포를 D-squame tape (D100,

CuDerm, USA)로 채취하였으며, 그 다음 Fontana-Masson 법을 이용하여 멜라닌 염색을 실시하였다. 염색된 멜라닌을 광학 현미경(Metallux 3, Leitz, USA)과 CCD 카메라, 그리고 영상 분석 프로그램(Image-Pro plus, Mediacybernetics, USA)을 이용하여 각질세포 내에 존재하는 멜라닌을 정량화하였고, 색차계 측정값과 비교하였으며 그 결과는 Figure 3과 같다.

색차계 측정값과 멜라닌 양과의 상관관계는  $L^*$ 값 (whiteness),  $a^*$ 값(redness),  $b^*$ 값(yellowness),  $ITA^\circ$  (Individual Typology Angle,  $\text{ArcTan}((L^*-50)/b^*) \times 180/\pi$ )으로 구분하여 비교하였고, 그 결과는 각각 0.6049, 0.1970, 0.4679, 0.6651이었다.  $L^*$ 값 및  $ITA^\circ$ 값과의 상관관계가 비교적 높은 편이었고, 이를 통해 멜라닌이 피부색, 그 중에서도 밝기(whiteness)와 밀접한 관계가 있음을 확인할 수 있었다.

3.3. 각질세포 멜라닌 양에 따른 새로운 피부색 분류기준

각질세포 내 멜라닌 양이 피부색과 밀접한 관계가 있음을 확인함으로써 MCA값이 피부색을 분류하는 새로운 기준으로 이용될 수 있는 가능성을 확인하였다. 이에 MCA값에 따라 피부색을 Table 3과 같이 분류해 보았으며 새로운 MCA기준별로 평균적 피부색 데이터( $L^*$ ,  $ITA^\circ$ )를 제시해 보았다.

4. 결론 및 토의

사람의 피부색에는 여러 요인들이 관여하고 있다. 그 중에서도 표피층 내의 멜라닌 양은 결정적인 역할을 하고 있다고 알려져 있다. 표피 내 멜라닌 양은 기저세포층에 존재하고 있는 멜라닌형성세포의 멜라닌 생산 능력에 의해 많은 영향을 받는다. 멜라닌형성세포에서 생산된 멜라닌은 각질형성세포 내로 이동되어 각질형성세포의 분화에 따라 각질세포층까지 이동된다. 즉 왕성한 멜라닌형성세포의 활성은 그만큼 각질세포 내에 많은 멜라닌이 함유되어 있음을 의미한다. 따라서 각질세포층 내의 멜라닌 양은 간접적으로 기저세포층의 멜라닌형성세포의 활성을 반영한다고 볼 수 있다. 활성화된 멜라닌형성세포에 의한 멜라닌 생성 증가와 각질세포 내의 많은 멜라닌은 곧 피부색이 검어짐을 이야기 한다. 본 실험을 통해 그 사실을 확인할 수 있었다.

멜라닌 양과 피부색 사이에 밀접한 관계가 있음을 통해 각질세포 내 멜라닌 정량법은 많은 부분에서 이용될 수 있을 것으로 기대된다. 먼저 새로운 미백 평가법으로 이용될 수 있다. 현재 *in vivo* 미백 평가법에서 주로 사용되고 있는 측정법은 육안판정 및 색차계 판정이 대부분 이용되고 있다. 그러나 색차계에 의한 측정은 미세한 차이가 있는 피부색의 경우 그 판정이 용이하지 않다. 하지만 각질세포 내 멜라닌 양을 이용한다면 그 미세한 차이도 비교 판정할 수 있을 것으로 기대된다.

또한 각질세포 내 멜라닌 정량법은 자외선에 대한 피

Table 3. Newly Proposed Skin Color Classification according to Melanin Amounts (MCA) in Corneocytes

MCA	Melanin image			$L^*$ value	$ITA^\circ$ value	Skin color
100				70.3	57.9	Very white
200				67.2	48.4	White
300				64.8	42.8	Normal
400				64.2	39.5	
500				61.5	31.3	Dark
700				58.8	24.5	Very dark

부의 방어능력을 평가할 수 있다. 멜라닌은 자외선에 대한 피부 방어 기능과 밀접한 관계가 있으며 자외선에 의한 피부암의 발생 빈도가 피부 내 멜라닌 양과 매우 밀접한 상관관계가 있다는 보고를 통해서도 그 사실을 알 수 있다. 따라서 각질세포 내 멜라닌 양은 자외선에 대해 피부가 얼마만한 방어능력을 지니고 있음에 대한 한가지 기준(parameter)이 될 수 있다. 즉 멜라닌이 많은 피부일수록 자외선에 강한 피부임을 말할 수 있다.

그리고 멜라닌형성세포의 활성을 측정할 수 있는 수단이 될 수 있다. 표피 내 멜라닌의 양은 멜라닌형성세포의 활성과 관계가 깊으며, 멜라닌형성세포의 멜라닌 생성능이 활발한 만큼 표피 내 멜라닌의 양 또한 증가한다. 멜라닌형성세포의 활성에 영향을 미치는 요인들 중 자외선의 영향은 크다. 많은 자외선 조사량은 그만큼 멜라닌형성세포의 멜라닌 생성능을 촉진하게 되며, 그 결과 멜라닌의 양이 증가하게 된다. 만약에 선블럭 제형이 많은 자외선의 투과를 막아준다면 멜라닌형성세포의 멜라닌 생성능은 크게 증가하지 않을 것이며, 표피 내 멜라닌 양 또한 별다른 변화가 없을 것이다. 이러한 점을 이용한다면 자외선 차단능도 측정할 수 있으며 추가적으로 피부층별 멜라닌양의 변화를 관찰하기 용이하다는 장점을 활

용한다면 경시적인 변화를 연구하기에도 유용할 것으로 기대된다.

앞으로 더 추가되어야 할 실험은 많다. 더욱 많은 사람에 대한 각질세포 내 멜라닌 양의 데이터를 축적하여 더욱 객관성 높은 피부색과의 상관관계를 확인해야 되며, 또한 미백 효과가 뛰어난 물질을 이용하여 각질세포 내 멜라닌 양의 변화를 밝히는 실험도 남아있다. 피부 속의 특정유전자와 각질세포 내 멜라닌의 절대량 혹은 멜라닌 양의 변화정도와의 상관관계에 대한 연구도 가능하리라 판단된다.

하지만 본 연구의 결과를 통해 볼 때, 각질세포 내 멜라닌 양은 피부색과 관련이 매우 깊음을 알 수 있었고, MCA를 이용한 멜라닌의 정량적 측정법은 새로운 *in vivo* 미백 평가 및 피부색 관련 여러 분야에서 유용하게 이용될 수 있을 것이다.

## 감 사

본 연구는 보건복지부 보건의료연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것으로(과제 고유번호 : A092055), 지원에 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

1. P. T. Pugliese, Physiology of the skin, 39, Allured Publishing Corporation, USA (1996).
2. H. Lu, C. Edxards, S. Gaskell, A. Pearse, and R. Marks, Melanin content and distribution in the surface corneocyte with skin phototypes, *British J. Dermatol.*, **135**, 263 (1996).
3. I. M. Freedberg, A. Z. Eisen, K. Wolff, K. F. Austen, L. A. Goldsmith, and S. I. Katz, Fitzpatrick's dermatology in general medicine 6th ed., **I**, 127, The McGraw-Hill Professional, USA (2003).
4. G. Prota, Melanins and melanogenesis, *Cosmetics & Toiletries*, **111**, 43 (1996).