

백차 열수추출물의 자외선 조사에 의한 피부염증 및 피부장벽손상 완화 효과

이 경 옥, 김 영 철^{1,*}, 장 병 수^{2,*}

호원대학교 미용예술학과, ¹계명대학교 대학원 공중보건학과,
²한서대학교 보건학부 피부미용학과

The Alleviative Effect of White Tea Water Extract on Inflammation and Skin Barrier Damage

Kyung-Ok Lee, Young-Chul Kim^{1,*}, Byung-Soo Chang^{2,*}

Department of Beauty Art, Howon University, Gunsan 573-718, Korea

¹Department of Public Health, Graduate School, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

²Department of Cosmetology, Hanseo University, Seosan 356-706, Korea

(Received August 16, 2011; Revised September 21, 2011; Accepted September 22, 2011)

ABSTRACT

To investigate the alleviative effect of white tea water extract on the inflammation and skin barrier damage, skin aging animal model was produced by the irradiation of UVB to the backs of hairless mice for 12 weeks. And then experimental materials were applied topically for 4 weeks. At the 28th day of experiment, positive control (PC, 0.01% retinoic acid treatment) and experimental groups (E1, 1% white tea water extract treatment; E2, 2% white tea water extract treatment) had significantly ($p < 0.001$) lower values of both skin erythema index and transepidermal water loss (TEWL) than the control (C, saline treatment) group. The appearance of mast cell and the degree of its degranulation in dermal and subcutaneous layers were remarkably reduced in E1 and E2 groups compared to the C group. It is found that white tea water extract is effective in skin barrier damage and inflammation in hairless mouse.

Keywords : Hairless mice, Inflammation, Skin barrier, White tea

서 론

자외선 조사는 주름, 일광화상, 면역억제, 암과 같은 다양한 피부변화를 일으키며, 피부 결합조직에 주로 발생하는 광손상은 광노화의 특징적인 형태를 나타낸다(Fisher et al., 1997). 자외선에 노출된 피부에서는 O_2^- , $OH\cdot$, $RO_2\cdot$, H_2O_2 와 같은 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이 다량

생성된다(Cerutti, 1991). 생체내에서 활성산소종은 에너지 생산과 식균작용, 세포성장과 세포내 신호조절과 같은 긍정적인 역할을 하는 반면, 핵산, 단백질, 지방산과 당류와 반응하여 산화적 손상을 초래하기도 하며, 이러한 산화적 손상의 영향으로 세포 대사교란, 형태학적 및 초미세 구조 변화 등(Svobodova et al., 2003; Zhaorigetu et al., 2003)을 초래하여 피부 광노화로 이어진다.

인간의 피부 각질층은 기계적인 손상, 병원균과 방사선의

* Correspondence should be addressed to Dr. Young-Chul Kim, Department of Public Health, Graduate School, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea. Ph.: (053) 580-5931, Fax: (053) 588-5233, E-mail: yckim@kmu.ac.kr and Byung-Soo Chang, Department of Cosmetology, Hanseo University, Seosan 356-706, Korea. Ph.: (041) 660-1584, Fax: (041) 660-1590, E-mail: bschang@hanseo.ac.kr

침투로부터 몸을 보호하는 내부와 외부 환경의 장벽 역할을 하며, 최대한으로 경표피수분손실량(transepidermal water loss, TEWL)을 감소시켜 신체 항상성 조절에 중요한 역할을 담당한다. 과량의 중간 파장 자외선인 UVB(파장: 280~320 nm)는 활성 산소종을 다량으로 생성해 진피결합 조직의 손상과 함께 피부의 각질층 지질을 산화시켜 피부장벽의 손상을 초래함으로써 피부의 수분유지 기능을 저하시킨다. 또한 피부는 나이가 들어감에 따라 섬유아세포의 수와 기능이 감소하여 교원섬유, 탄력섬유 등 세포외 기질단백질의 합성이 줄어든다(Chaqour et al., 1995).

현재까지 피부노화 억제 및 개선을 위한 많은 연구가 진행되고 있으며 기능성 물질들이 다양하게 개발되어 사용되고 있다. 그 중 retinoids는 각질형성세포와 섬유아세포의 증식을 유도하고 진피에서 콜라겐 합성을 촉진하는 것으로 알려져 있다(Varani et al., 1991). 다양한 천연 또는 합성 retinoids는 노화의 치료를 위해 사용되었고 임상적인 개선을 보여주었으나, retinoids를 국소 도포제로 사용하는 많은 환자들에서 레티노이드 피부염(retinoid dermatitis)이라는 자극성 피부염을 초래해 홍반, 건조, 작열감, 소양감 등의 부작용을 일으키는 것으로 보고되었다(Mukherjee et al., 2006). 이에 따라 피부노화 억제를 위해 부작용이 적으면서 효과가 높은 안전한 제품 개발이 요구되고 있다.

오늘날 차는 독특한 향, 풍미 및 건강에 대한 다양한 혜택으로 인해 전 세계적으로 가장 많이 소모되고 있는 대중적인 음료이다. 차에 많이 함유되어 있는 polyphenol, flavonoids는 항산화 물질로 알려져 있으며, 차의 지표성분으로 카테킨에 속하는 EGCG(epigallocatechin-3-gallate) 성분은 가장 강력한 항산화, 항암, 항염증 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Katiyar et al., 2001). 백차는 다(茶)류 중 최소의 가공만을 한 형태로 솜털이 덮인 어린 차 싹을 따서 뒤거나 비비지 않고 그대로 말려 산화시키지 않은 차로써(Park & Kim, 2009), 최근의 연구에서 피부 광보호 효과(Camouse et al., 2009), 우수한 항산화능과 함께 *in vivo*와 *in vitro* 시험에서 피부 미백에 탁월한 효능을 나타낸 것으로 보고된 바 있다(Park & Kim, 2009). 이에 본 연구에서는 hairless 마우스에 UVB를 반복 조사하여 피부장벽 손상 및 염증을 유발시킨 후, 우수한 항산화능으로 인해 피부노화 억제 효과가 기대되는 백차 열수추출물을 도포하여 *in vivo*에서 피부장벽 손상 및 염증 완화 효과에 대한 유효성을 알아보았다.

재료 및 방법

1. 시약 및 기기

Hydrogen peroxide는 Junsei사(Japan)의 제품을, hematoxy-

lin, bovine serum albumin, retinoic acid, polyethylene glycol은 Sigma사(USA)의 제품을 사용하였으며 그 외 일반시약들은 특급품을 사용하였다.

실험기기 중 자외선 조사장치는 UVB sunlamp (UVM-225D, Mineralight Lamp UVP, USA)를, 자외선 측정 장치는 UV-radiometer (HD 9021, Delta OHM, Italy)를 사용하였다. 피부의 홍반도는 Mexameter (MX18, CK electronic GmbH, Germany), 수분함량은 Corneometer (CM825, CK electronic GmbH, Germany), 경표피수분손실량 측정은 Tewameter (TM300, CK electronic GmbH, Germany)를 이용하였다. 조직표본 관찰은 light microscope (BX51, Olympus, Japan)와 digital camera system (Progres C14 plus, Olympus, Japan)을 사용하였다.

2. 시료 제조

백차(white tea)를 건조시킨 잎(중국 Fujian 지방에서 재배)을 600 g 구입하여 증류수 5 L를 첨가하여 초고속 감압 저온 추출기로 2시간 30분 열수추출한 후 농축 용기에 담아 농축하고 동결 건조 장치로 동결 건조시킨 홍차 열수추출물 분말을 용매(propylene glycol : ethanol : water, 5 : 3 : 2)에 용해시켜 시료로 사용하였다.

3. 실험동물 및 처치

6~7주령의 암컷 SKH-1 hairless 마우스(Charles-River, Japan)를 분양받아 사육실(온도 $22 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도 $50 \pm 5\%$, 명암주기 12시간)에서 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였고 물과 사료의 양은 제한 없이 공급하였다. 실험동물은 실험종료 후 에테르로 마취한 후 개방하여 후대정맥에서 채혈하고, 피부 및 장기를 적출하였다. 적출한 피부의 일부는 10% 중성 포르말린 용액에 고정하여 조직학적 검사에 사용하였다. 실험동물은 정상군(Normal, N): 아무런 처치를 하지 않은 군, 대조군(control, C): 자외선조사+생리식염수 도포군, 양성대조군(positive control, PC): 자외선조사+0.01% retinoic acid 도포군, 실험군 1(experimental 1, E1): 자외선조사+1% 백차 열수추출물 도포군, 실험군 2(experimental 2, E2): 자외선조사+2% 백차 열수추출물 도포군, 총 5개 군으로 나누어 군당 7마리씩 총 35마리를 실험에 사용하였다. 동물실험은 실험윤리위원회의 원칙을 준수하고 동물보호법의 3R 및 윤리적인 측면을 고려하면서 수행하였다.

4. 피부장벽 손상 및 시료도포

자외선 조사장치의 광원은 302 nm의 UVB를 방출하는 sunlamp를 사용하였다. 자외선 조사량은 UV-radiometer로 측정하였으며, 마우스를 자외선 조사용 cage에 가둔 후 등

부위에 격일 간격으로 1주일에 3회, 12주간 [1주: 60 mJ/cm² (1MED), 2주: 2MED, 3주: 3MED, 4~12주: 4MED] 조사하였고 시료 도포 기간 동안 4MED의 광량으로 주 1회 조사하였다. 생리식염수와 백차 열수추출물은 1일 2회(1%: 0.13 g/kg BW/day, 2%: 0.26 g/kg BW/day), 주 5일, 4주 동안 매 회 200 µL씩 등 부위에 도포하였다. Retinoic acid는 polyethylene glycol에 0.01%로 희석하여 1일 2회, 주 5일, 4주 동안 매 회 200 µL씩 도포하였다.

5. 피부 홍반도, 수분함량 및 TEWL 측정

홍반도는 Mexameter를, 수분함량은 Corneometer를, TEWL은 Tewameter를 사용하여 비침습적 방법으로 실험기간 동안 주 1회 측정하였다.

6. 피부 조직의 형태학적 관찰

1) Hematoxylin and eosin (H&E) 염색 관찰

절취한 피부조직을 실온에서 10% 중성 포르말린 용액에 24시간 고정 후 통상적인 방법으로 수세, 탈수, 투명, 침투 과정을 거친 다음 paraffin에 포매하고 4 µm 두께로 절편을 만들어 H&E 염색 후 피부조직의 변화양상을 광학현미경으로 관찰하였다.

2) Toluidine blue 염색 관찰

절취한 피부조직을 실온에서 10% 중성 포르말린 용액에 24시간 고정 후 통상적인 방법으로 수세, 탈수, 투명, 침투 과정을 거친 다음 파라핀으로 포매하고 4 µm 두께로 절편을 만들어 Toluidine blue 염색 후 진피층 및 피하층 내 mast cell의 분포양상 및 탈과립 정도를 광학현미경으로 관찰하였다.

7. 혈액학적 검사

채취한 혈액을 혈액응고 방지제인 K₂EDTA가 포함된 채혈 tube에 담아 coulter mixer기 위에서 5분 이상 혼합한 뒤 자동 혈구 분석기(XE-2100, Sysmex, Japan)를 이용하여 적혈구수, 백혈구수, 호중구수, 호산구수, 호염구수, 림프구수, 단핵구수, 혈소판수, 혈색소 농도, 적혈구 용적을 측정하였다.

8. 장기 무게 측정

실험동물을 에테르로 마취한 후 개복하여 비장, 흉선을 적출한 다음 생리 식염수로 씻어내고 수분을 여과지로 제거한 다음 전자저울(CP224S, Sartorius, Germany)을 이용하여 측정하였다.

9. 자료 분석

통계적 분석은 SPSS 18.0 for windows (SPSS Inc., USA)를 이용하여 유의성 검정을 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)으로 분석하였고, 정상군(N), 대조군(C), 양성대조군(PC), 실험군(E1, E2) 간의 차이는 Duncan's multiple range test를 이용하여 사후분석하였다. 통계적 유의수준은 $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$ 에서 실시하였다.

결 과

1. 피부 홍반도 변동

홍반도의 변동을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 실험 전 기간 동안 모든 군은 대조군(C)에 비해 유의하게 ($p < 0.001$) 낮았으며, 실험 4주 후 대조군에 비해 양성대조군(PC), 실험군 E1, E2는 각각 31, 41, 46% 유의하게 ($p < 0.001$) 낮았다.

2. 피부 수분함량 변동

수분함량의 변동을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 수분함량은 실험 전 기간 동안 모든 군은 대조군(C)에 비해 유의하게 ($p < 0.001$) 높았으며, 실험 4주 후 대조군에 비해 양성대조군(PC), 실험군 E1, E2는 각각 190, 207, 225% 유의하게 ($p < 0.001$) 높았다.

3. 피부 TEWL 변동

TEWL 변동을 측정한 결과는 Table 1과 같다. TEWL은 실험 2주 후, 대조군(C)에 비해 양성대조군(PC)을 제외한 모든 군에서 유의하게 ($p < 0.001$) 낮았으며, 실험 4주 후 대조군에 비해 양성대조군(PC), 실험군 E1, E2는 각각 61, 79, 85% 유의하게 ($p < 0.001$) 낮았다.

4. 피부 조직의 형태학적 변화

1) Hematoxylin and eosin (H&E) 염색 관찰

피부조직 형태 및 염증관련 세포를 관찰한 결과는 Fig. 1A와 같다. 정상군(N)은 표피와 진피층 배열이 규칙적이며 염증관련 세포들이 거의 보이지 않은 반면, 대조군(C)은 표피와 진피가 두꺼워졌고 진피층 내 염증관련 세포들이 상당수 관찰되었으며 피지선의 증식이 관찰되었다. 이에 비해 양성대조군(PC)과 백차 열수추출물 도포군 E1, E2는 염증관련 세포들이 대조군에 비해 줄어들었으며 E1, E2군 비교에서는 E2군이 정상군에 가까운 양상을 보였다.

2) Toluidine blue 염색 관찰

진피층과 피하층 내 비만세포 형태를 관찰한 결과는 Fig.

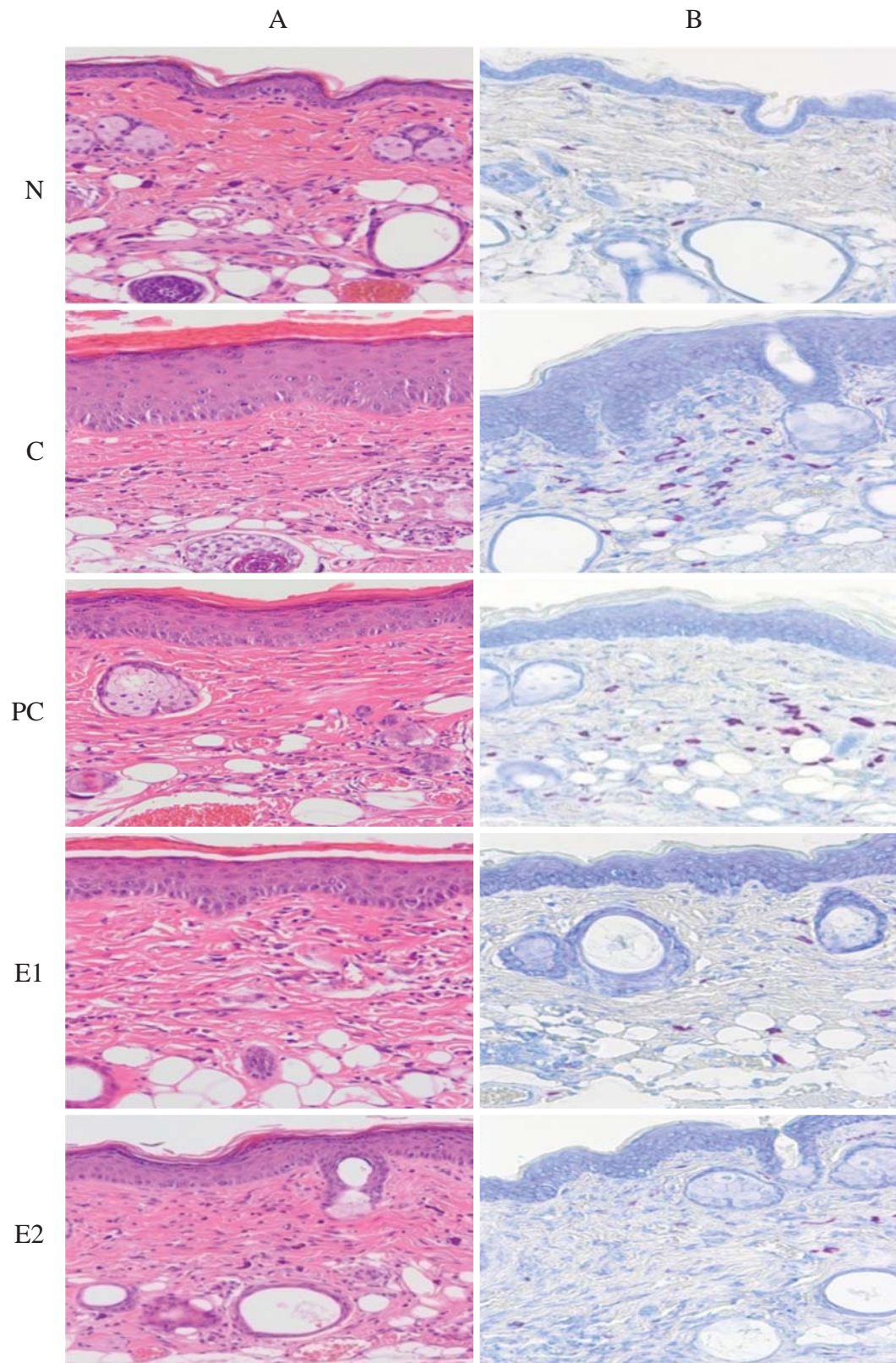


Fig. 1. Histological observation on SKH-1 hairless mouse skin after 4-week application of test compounds. A: H&E stain, $\times 200$. Severe hyperthrophic epidermis is shown in the C group. Neutrophils, lymphocytes and macrophages are considerably decreased in PC, E1 and E2 groups compared to the C group. B: Toluidine Blue stain, $\times 200$. Mast cells are remarkably decreased in E1 and E2 groups compared to the C group. However, quite many mast cells are observed in the PC group.

Table 1. Changes in erythema index, moisture capacity, and TEWL of SKH-1 hairless mice skin during the experimental period

Weeks		Groups				
		N	C	PC	E1	E2
Erythem index	1	233.56 ± 24.22 ^a	339.47 ± 4.72 ^d	308.67 ± 8.46 ^c	283.19 ± 10.18 ^b	275.95 ± 3.22 ^b
	2	242.72 ± 21.25 ^a	349.27 ± 3.07 ^d	295.72 ± 8.56 ^c	274.10 ± 11.52 ^{bc}	257.89 ± 4.73 ^{ab}
	3	257.08 ± 17.79 ^b	370.60 ± 6.52 ^d	288.40 ± 7.63 ^c	257.17 ± 6.18 ^b	235.40 ± 10.58 ^a
	4	272.50 ± 26.02 ^b	407.40 ± 6.50 ^c	279.33 ± 12.79 ^b	239.09 ± 8.59 ^a	222.00 ± 2.36 ^a
Moisture capacity	1	61.60 ± 4.65 ^b	39.97 ± 0.96 ^a	56.82 ± 4.71 ^b	61.17 ± 5.60 ^b	63.59 ± 1.81 ^b
	2	52.82 ± 9.29 ^b	30.03 ± 0.27 ^a	64.45 ± 4.71 ^c	67.23 ± 5.10 ^{cd}	75.67 ± 2.32 ^d
	3	38.96 ± 5.60 ^b	19.67 ± 2.17 ^a	69.11 ± 4.02 ^c	72.62 ± 5.80 ^{cd}	78.33 ± 1.19 ^d
	4	48.54 ± 3.34 ^b	29.83 ± 1.38 ^a	86.43 ± 3.11 ^c	91.62 ± 3.10 ^d	96.84 ± 0.55 ^e
TEWL	1	7.54 ± 1.63 ^a	17.72 ± 1.58 ^b	23.17 ± 3.65 ^c	14.90 ± 3.18 ^{b**}	13.37 ± 1.52 ^{b**}
	2	10.15 ± 1.13 ^a	21.62 ± 1.57 ^c	17.35 ± 4.10 ^{bc**}	13.41 ± 2.84 ^{ab}	11.72 ± 0.86 ^a
	3	10.85 ± 0.96 ^a	25.52 ± 0.84 ^c	17.85 ± 2.76 ^b	10.60 ± 1.88 ^a	7.90 ± 0.31 ^a
	4	14.72 ± 2.47 ^b	41.32 ± 0.95 ^c	15.92 ± 2.47 ^b	8.73 ± 2.04 ^a	6.00 ± 1.23 ^a

Values are mean ± SD of 7 mice.

N: no treatment group

C: UVB irradiation+saline treatment group

PC: UVB irradiation+0.01% retinoic acid treatment group

E1: UVB irradiation+1% white tea treatment group

E2: UVB irradiation+2% white tea treatment group

Values with different superscripts in the same row are significantly different ($p < 0.001$) by ANOVA and Duncan's multiple range test.

** $p < 0.01$ compared to the C group by ANOVA and Duncan's multiple range tests.

Table 2. Hematological profiles of SKH-1 hairless mice after 4-week application of test compounds

Items	N	C	PC	E1	E2
WBC (k/ μ L)	7.887 ± 0.14 ^a	11.170 ± 0.55 ^c	9.200 ± 0.59 ^b	7.591 ± 0.45 ^a	8.055 ± 0.10 ^a
Neutrophil (k/ μ L)	1.733 ± 0.03 ^a	2.501 ± 0.31 ^b	2.306 ± 0.40 ^b	1.948 ± 0.04 ^a	1.805 ± 0.13 ^a
Lymphocyte (k/ μ L)	5.552 ± 0.39 ^a	8.331 ± 0.58 ^d	6.459 ± 0.34 ^c	5.834 ± 0.15 ^{ab}	6.157 ± 0.23 ^{bc}
Monocyte (k/ μ L)	0.125 ± 0.09 ^{ab}	0.078 ± 0.04 ^a	0.196 ± 0.05 ^c	0.150 ± 0.05 ^{bc}	0.140 ± 0.06 ^{abc}
Eosinophil (k/ μ L)	0.035 ± 0.02 ^a	0.033 ± 0.01 ^a	0.047 ± 0.05 ^a	0.062 ± 0.03 ^a	0.052 ± 0.03 ^a
Basophil (k/ μ L)	0.057 ± 0.11 ^a	0.021 ± 0.03 ^a	0.002 ± 0.004 ^a	0.006 ± 0.04 ^a	0.007 ± 0.01 ^a
RBC (M/ μ L)	4.519 ± 0.12 ^c	3.617 ± 0.12 ^a	4.267 ± 0.17 ^b	4.260 ± 0.05 ^b	4.661 ± 0.14 ^d
Hb (g/dL)	15.271 ± 0.56 ^c	11.643 ± 0.81 ^a	13.586 ± 0.60 ^b	15.540 ± 0.37 ^c	15.450 ± 0.52 ^c
HCT (%)	45.72 ± 0.70 ^{cd}	32.86 ± 1.48 ^a	43.52 ± 0.89 ^b	46.50 ± 0.26 ^d	45.35 ± 0.75 ^c
Platelet (k/ μ L)	546.26 ± 9.72 ^c	437.00 ± 7.57 ^a	516.11 ± 18.73 ^b	518.0 ± 4.28 ^b	556.7 ± 14.45 ^c

Values are mean ± SD of 7 mice.

N: no treatment group

C: UVB irradiation+saline treatment group

PC: UVB irradiation+0.01% retinoic acid treatment group

E1: UVB irradiation+1% white tea treatment group

E2: UVB irradiation+2% white tea treatment group

Values with different superscripts in the same row are significantly different ($p < 0.05$) by ANOVA and Duncan's multiple range tests.

Table 3. Organ weight of SKH-1 hairless mice after 4-week application of test compounds

Organs	N	C	PC	E1	E2
Spleen	0.130 ± 0.037 ^{1)a}	0.103 ± 0.010 ^a	0.136 ± 0.015 ^a	0.107 ± 0.002 ^a	0.113 ± 0.022 ^a
	0.447 ± 0.107 ^{2)a}	0.361 ± 0.036 ^a	0.475 ± 0.053 ^a	0.367 ± 0.071 ^a	0.406 ± 0.081 ^a
Thymus	0.023 ± 0.004 ^a	0.020 ± 0.002 ^a	0.019 ± 0.005 ^a	0.022 ± 0.005 ^a	0.021 ± 0.004 ^a
	0.087 ± 0.019 ^a	0.070 ± 0.009 ^a	0.067 ± 0.018 ^a	0.076 ± 0.016 ^a	0.077 ± 0.017 ^a

Values are mean ± SD of 7 mice.

N: no treatment group

C: UVB irradiation+saline treatment group

PC: UVB irradiation+0.01% retinoic acid treatment group

E1: UVB irradiation+1% white tea treatment group

E2: UVB irradiation+2% white tea treatment group

¹⁾Absolute weight: g, ²⁾Relative weight: g/100 g body weight

Values with same superscript in the same row are not significantly different ($p > 0.05$) by ANOVA and Duncan's multiple range tests.

1B와 같다. 백차 열수추출물 도포군 E1, E2는 대조군(C)에 비해 비만세포수와 탈과립 정도가 현저하게 줄었으며, 양성대조군(PC)은 대조군에 비해 약간 줄어 들은 것을 확인하였다.

5. 혈액학적 변동

혈액학적 변동을 분석한 결과는 Table 2와 같다. 정상군(N)에 비해 대조군(C)과 양성대조군(PC)에서 염증성 세포인 총 백혈구, 호중구, 림프구 수가 유의하게 많았고($p < 0.05$), 적혈구, 헤모글로빈, 헤마토크리트, 혈소판 수치는 유의하게($p < 0.05$) 적었다. 반면, 백차 열수추출물 도포군 E1, E2는 전반적인 수치에서 정상군에 가까운 양상을 나타냈다.

6. 장기무게 변동

적출한 비장 및 흉선 무게를 측정된 결과는 Table 3과 같다. 비장의 절대무게와 상대무게는 모든 군에서 유의한 차이가 없었다.

고 찰

차가 가지고 있는 다양한 건강상의 혜택은 주로 높은 함량의 폴리페놀과 플라보노이드에 의한 것으로 알려져 있다(Shahidi, 2000). 차 내의 폴리페놀 성분은 *in vitro*에서 활성 산소종(ROS)과 질소종(NOS) 제거 및 전이금속이온을 킬레이트시킴으로써 항산화 작용을 한다(Wang et al., 1991; Frei & Jane, 2003). 플라보노이드 성분은 강력한 산화를 억제하는 특성을 가진 2차 대사물질로서 UV 조사로부터 ROS를 제거하여 식물체를 보호하는 역할을 한다(Shirley, 1996; Pitta, 2000). 이를 근거로 본 연구는 hairless 마우스를 이용하여 피부노화 실험동물 모델을 만든 후, 높은 항산화능으로 인해 피부노화 억제 효과가 기대되는 백차 열수추출물을 도포하여 염증 및 피부장벽 손상 완화 효과를 알아보았다.

과량의 UVB 조사에 의한 피부의 급성적인 초기반응은 염증 발생이다(Matsumura & Ananthaswamy, 2004). 염증반응이 심한 경우 비만세포의 증가와 함께 탈과립으로 방출된 histamine은 혈관 확장을 초래하여 홍반을 일으킨다. 피부의 염증반응 정도를 알아보기 위해 비침습적인 방법으로 홍반도를 측정된 결과, 실험 전 기간 동안 모든 군은 대조군에 비해 유의하게($p < 0.001$) 낮았고, 특히 백차 열수추출물 도포군은 다른 모든 군에 비해 유의하게($p < 0.001$) 낮았다. 녹차 추출물을 피부에 도포시 UV 조사에 의한 홍반 반응을 농도 의존적으로 억제하였다는 선행 연구보고도 있다(Katihar et al., 2000; Kim et al., 2001). 과량의 UVB 피부노출은 면역기능의 억제를 초래하여, 랭게르한스 세포의 감소

와 표피의 대식세포와 백혈구의 침윤 증가(Kondo, 2000), 조직염증 세포에 해당하는 비만세포의 탈과립을 일으킨다. 또한, UVB에 만성적으로 노출되면 표피의 과립층과 각질층을 증가시켜 표피의 비후와 함께 진피내 탄력섬유증이 발생한다(Chiba et al., 2003; Choi et al., 2008; Kwon et al., 2009; Suck et al., 2010). 피부조직을 현미경으로 관찰한 결과, 정상군은 호중구, 림프구, 대식구와 같은 염증성 세포들이 거의 보이지 않은 반면, 대조군은 진피내 이들 세포들의 상당수와 함께 표피와 진피층의 비후가 확인되었다. 반면 백차 열수추출물 도포군은 염증 세포가 현저히 줄어들었으며 표피와 진피층의 비후 정도도 경감되었다. 아울러 대조군은 비만세포가 현저히 많이 관찰되었고 탈과립 정도가 심하게 나타난 반면, 백차 열수추출물 도포군은 비만세포가 적게 관찰되었고 탈과립 정도도 경미하게 나타나 정상군과 유사한 양상을 보였다. 혈액학적 profile을 분석한 결과, 대조군은 정상군에 비해 염증성 세포인 호중구, 림프구와 함께 총 백혈구 수치가 유의하게($p < 0.05$) 많았다. 반면, 백차 열수추출물 도포군은 대조군과 비교하여 이들 수치가 유의하게($p < 0.05$) 낮았으며 정상군 수치와 비슷하였다. 이러한 혈액학적 profile 결과는 조직학적 관찰 결과와 부합하는 것으로서 백차 열수추출물이 UV 조사로 인한 염증반응에 상당한 완화효과가 있음을 확인시켜 준다. UVB 노출 전에 차의 지표성분인 EGCG의 국소 적용이 호중구 침윤과 함께 CD11b+ 단핵구와 대식세포의 비를 감소시켰다는 연구보고도 있다(Katihar et al., 2001; Dona et al., 2003).

일반적으로 노화된 피부의 건조하고 거칠고 비늘 모양의 외관은 손상된 피부장벽으로 인한 각질층의 수분 감소에 기인한 것으로서(Ghadially et al., 1995), 피부의 수분함량과 TEWL은 피부장벽 기능 지표로 사용되고 있다. 이에 본 연구에서는 수분함량, TEWL 측정을 통해 피부장벽 손상 정도를 확인하였다. 실험 전 기간 동안 대조군과 비교하여 모든 군은 수분함량이 유의하게($p < 0.001$) 높았고, 특히 백차 열수추출물 도포군은 다른 모든 군에 비해 유의하게($p < 0.001$) 높았다. TEWL 비교에서 실험 1주에 백차 열수추출물 도포군은 대조군에 비해 유의하게($p < 0.01$) 낮았고, 실험 4주에는 다른 모든 군에 비해 유의하게($p < 0.001$) 낮았다. 이들 실험결과를 통해 백차 열수추출물이 표피층내 피부장벽 손상완화에 상당히 효과적임을 확인할 수 있었다. Heinrich et al. (2006)은 카테킨과 같은 폴리페놀을 음료로 섭취하였을 때 각질층 피부장벽 기능을 향상시켰음을 보고하였고, Puch et al. (2008)은 우유와 혼합한 녹차의 섭취 후에 피부 장벽 기능이 증진되었음을 확인하였다. 기초적인 안전성 확인결과, 주요 면역장기인 비장과 흉선의 절대무게에서 모든 군은 유의한 차이가 없었다. 본 연구의 실험결과를 종합할 때, hairless 마우스를 이용한 *in vivo* 실험에서 백차 열수추출물 경피 도포는 자외선 조사로 인해 유발된 피

부장벽 손상 및 염증 반응에 상당한 개선 효과가 있음을 확인하였다.

참 고 문 헌

- Camouse MM, Domingo DS, Swain FR, Conrad EF, Matsui MS, Maes D, Declercq L, Cooper KD, Stevens SR, Baron ED: Topical application of green and white tea extracts provides protection from solar-simulated ultraviolet light in human skin. *Exp Dermatol* 18(6) : 522-526, 2009.
- Cerutti PA: Oxidant stress and carcinogenesis. *Eur J Clin Invest* 21 : 1-5, 1991.
- Chaqour B, Seite S, Coutant K, Foyrtanier A, Borel JP, Bellon G: Chronic UVB- and all-trans retinoic-acid-induced qualitative and quantitative changes in hairless mouse skin. *J Photochem Photobiol* 28(2) : 125-135, 1995.
- Chiba K, Kawakami K, Sone T, Onoue M: Characteristics of skin wrinkling and dermal changes induced by repeated application of squalene monohydroperoxide to hairless mouse skin. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 16(4) : 242-251, 2003.
- Choi OS, Kwon MH, Kong MK, Lee SH, Gang SR, Kim PS, Kim YC: Inhibition effects of frankincense oil on skin aging (II). *J Environ Toxicol* 23(2) : 129-138, 2008. (Korean)
- Dona M, Isabella DA, Fiorella C, Roberto B, Monica M, Adriana A, Spiridione G: Neutrophil restraint by green tea: inhibition of inflammation, associated angiogenesis, and pulmonary fibrosis. *J Immunol* 170 : 4335-4341, 2003.
- Fisher GJ, Wang ZQ, Datta SC, Varani J, Kang S, Voorhees JJ: Pathophysiology of premature skin aging induced by ultraviolet light. *N Engl J Med* 337(20) : 1419-1428, 1997.
- Frei B, Jane VH: Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal. *Am Soc Nutr Sci* 133(10) : 3275S-3284S, 2003.
- Ghadially R, Brown BE, Sequeira-Martin SM, Feingold KR, Elias PM: The aged epidermal permeability barrier: Structural, functional, and lipid biochemical abnormalities in humans and a senescent murine model. *Clin Invest* 95(5) : 2281-2290, 1995.
- Heinrich U, Neukam K, Tronnier H, Sies H, Stahl W: Long-term ingestion of high flavanol cocoa provides photoprotection against UV-induced erythema and improves skin condition in women. *J Nutr* 136 : 1565-1569, 2006.
- Katiyar SK, Afaq F, Perez A, Mukhtar H: Green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate treatment of human skin inhibits ultraviolet radiation-induced oxidative stress. *Carcinog* 22(2) : 287-294, 2001.
- Katiyar SK, Perez A, Mukhtar H: Green tea polyphenol treatment to human skin prevents formation of ultraviolet light B-induced pyrimidine dimers in DNA. *Clin Cancer Res* 6 : 3864-3869, 2000.
- Kim J, Hwang JS, Cho YK, Han Y, Jeon YJ, Yang KH: Protective effects of (-)-epigallocatechin-3-gallate on UVA- and UVB-induced skin damage. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 14 : 11-19, 2001.
- Kondo S: The roles of cytokines in photoaging. *J Dermatol Sci* 23(1) : S30-S36, 2000.
- Kwon MH, Choi SY, Kim YC: Inhibition effects of *Peonia japonica* water extract on skin aging (II). *J Environ Toxicol* 24(2) : 169-178, 2009. (Korean)
- Matsumura Y, Ananthaswamy HN: Toxic effects of ultraviolet radiation on the skin. *Toxicol Appl Pharmacol* 19(3) : 298-308, 2004.
- Mukherjee S, Abhijit D, Vandana P, Orting HC, Roeder A, Weindl G: Retinoids in the treatment of skin aging: an overview of clinical efficacy and safety. *Clin Interv Aging* 1(4) : 327-348, 2006.
- Park EY, Kim YC: Effectiveness of white tea extract on skin whitening using in vitro test. *J Kor Soc Cosm* 15(2) : 611-617, 2009. (Korean)
- Pitta PG: Flavonoids as antioxidants. *J Nat* 63 : 1035-1042, 2000.
- Puch F, Samson-Villeger S, Guyonnet D, Blachon JL, Rawlings AV, Lassel T: Consumption of functional fermented milk containing borage oil, green tea and vitamin E enhances skin barrier function. *Exp Dermatol* 17(8) : 668-674, 2008.
- Shahidi F: Antioxidants in food and food antioxidants. *Nahr* 44(3) : 158-163, 2000.
- Shirley BW: Flavonoid biosynthesis: 'new' functions for an 'old' pathway. *Trends Plant Sci* 11(1) : 377-382, 1996.
- Suck TS, Choi SY, Kim YC: Inhibition effects of LED light irradiation on the wrinkle formation in hairless mouse. *J Cosmetic Sci* 6(4) : 347-356, 2010. (Korean)
- Svobodova A, Psotova J, Walterova D: Natural phenolics in the prevention of UV-induced skin damage a review. *Biomed Papers* 147(2) : 137-145, 2003.
- Varani J, Gendimenico GJ, Shah B, Gibbs D, Capetola RJ, Mezick JA: A direct comparison of pharmacologic effects of retinoids on skin cells in vitro and in vivo. *Skin Pharmacol Physiol* 4(4) : 254-261, 1991.
- Wang ZY, Agarwal R, Bickers RD, Mukhtar H: Protection against ultraviolet B radiation-induced photocarcinogenesis in hairless mice by green tea polyphenols. *Carcinog* 12(8) : 1527-1530, 1991.
- Zhaorigetu S, Yanaka N, Sasaki M, Watanabe H, Kato N: Inhibitory effects of silk protein, sericin on UVB-induced acute damage and tumor promotion by reducing oxidative stress in the skin of hairless mouse. *J Photochem Photobiol B Biol* 71 : 11-17, 2003.

< 국문 초록 >

백차 열수추출물의 염증 및 피부장벽 손상완화 효과를 알아보기 위해 생후 6~7주령 암컷 SKH-1 hairless 마우스 등 부위에 UVB를 12주간 조사하여 피부노화를 유발시킨 후, 실험동물을 정상군(N), 대조군(UVB+saline, C), 양성대조군(UVB+0.01%

retinoic acid, PC), 실험군1 (UVB+1% white tea water extract, E1), 실험군2 (UVB+2% white tea water extract, E2)로 나누어 1일 2회, 주 5일, 4주 동안 매회 200 μ L씩 시료를 도포하여 다음과 같은 결과를 얻었다. (1) 피부 홍반도 측정에서, 실험 4주 후 C군에 비해 PC, E1, E2군은 각각 31, 41, 46% 유의하게 ($p < 0.001$) 낮았다. (2) 수분함량 측정에서, 실험 4주 후 C군에 비해 PC, E1, E2군은 각각 190, 207, 225% 유의하게 ($p < 0.001$) 높았다. 경표피수분손실량 (transepidermal water loss, TEWL) 측정에서, 실험 4주

후 C군에 비해 PC, E1, E2군은 각각 61, 79, 85% 유의하게 ($p < 0.001$) 낮았다. 조직학적 관찰에서, C군에 비해 E1, E2군은 표피층과 진피층의 비후, 비만세포수와 탈과립 정도가 현저하게 경감되었다. 이상의 연구결과를 종합할 때, hairless 마우스를 이용한 *in vivo* 실험에서 백차 열수추출물 경피 도포는 자외선 조사로 인해 유발된 피부장벽 손상 및 염증 반응에 상당한 개선 효과가 있음을 확인하였다.