

## Hairless Mice에서 UVB로 유도된 피부손상에 인삼추출물(Ginseol K-b1)이 미치는 영향

장정화<sup>1</sup> · 황세희<sup>1</sup> · 이은주<sup>1</sup> · Ohto Nobuaki<sup>2</sup> · 이진희<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>CJ제일제당(주) 식품연구소, <sup>2</sup>마루젠제약 중앙연구소, <sup>3</sup>CHA 의과대학 학교 식품생명공학과

### Effect of *Panax ginseng* C.A. Meyer Extract (Ginseol K-b1) on UVB-induced Skin Damage in Hairless Mice

Jeong-Hwa Chang<sup>1</sup>, Se-Hee Hwang<sup>1</sup>, Eun-Ju Lee<sup>1</sup>, Nobuaki Ohto<sup>2</sup> and Jin-Hee Lee<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Foods R&D, CJ CheilJedang Corporation, Seoul 152-050, Korea

<sup>2</sup>R&D Division, Maruzen Pharmaceutical Co. LTD., Hiroshima 729-3102, Japan

<sup>3</sup>Dept. of Food Science and Biotechnology, CHA University, Seongnam 463-836, Korea

#### Abstract

To investigate the effect of *Panax ginseng* C.A. Meyer extract (Ginseol K-b1), on skin functionality, we evaluated skin appearance and properties, such as wrinkle formation, skin moisture content, and skin elasticity in the skin of hairless mice damaged by UV irradiation. In addition, the effect of Ginseol K-b1 on collagen synthesis in human dermal fibroblasts was investigated. Female hairless mice were orally administered Ginseol K-b1 for 10 weeks with UV irradiation. Wrinkle formation in the Ginseol K-b1-treated group was significantly suppressed compared to the UV-irradiated group. Skin properties, including skin moisture content and elasticity, of the Ginseol K-b1-treated group were better than those of the control group. In the human fibroblast cells, Ginseol K-b1 treatment enhanced cell proliferation and significantly stimulated collagen synthesis. These results suggest that Ginseol K-b1 is a potent ingredient with anti-aging effects.

Key words : UV-induced skin damage, *Panax ginseng* extract, anti-wrinkle, anti-photoaging.

#### 서 론

피부는 외부의 유해한 자극으로부터 신체 내부의 장기들을 보호하고, 인체에 필수불가결한 수분이나 전해질 등이 외부로 유출되는 것을 막는 장벽 기능과 체온 조절과 같은 생리적인 기능 및 감각 기능을 담당하고 있다. 기본적인 생물학적 작용뿐만 아니라 감정 표현을 나타내는 사회적 기능도 담당하고 있다. 노인 인구가 증가되고 평균 수명이 증가하면서 젊고 건강하게 보이기 위한 피부 관리는 단순한 미(美)적 측면 외에도 정신적으로 건강하고 즐거운 삶을 영위하기 위해 최근에 관심이 높아지고 있는 영역이다. 종전에는 화장품에 의존하여 왔으나, 화장품은 바르는 국소적인 부분에만 적용된다는 점 때문에 최근에는 섭취를 함으로써 몸 전체 피부에 영양을 공급하고 노화를 예방한다는 인식이 늘어나면서 영양소나 기능성 소재의 섭취를 통한 피부 미용 효능을 평가하는 연구가 많이 이루어지고 있다(정진호 2010, Boelsma *et al* 2001).

피부 노화의 가장 주된 원인 중 하나는 자외선인데, 태양광

선에 노출된 피부는 항상 자외선에 노출되어 있다고 볼 수 있다. 자외선은 피부에 색소 침착, 탄력 저하, 거칠어짐, 주름 형성과 같은 외관적인 변화를 촉진하고, 궁극에는 피부암과 같은 병변을 유발한다고 알려져 있다. 피부 세포는 자외선에 의해 세포와 그 구조가 손상을 입는 것으로 알려져 있는데, 이는 자외선이 피부 세포내의 활성산소종(Reactive Oxygen Species : ROS)을 발생시켜 산화적 손상을 유발하며, DNA에 손상을 줄 수 있는 pyrimidine dimmers 등의 광생성물(photoproduct) 발생을 유도하기 때문이다(Cadet *et al* 2005, Ichihashi *et al* 2009). 또한 자외선으로 생성된 활성산소종은 피부 세포 내의 여러 신호전달체계를 활성화시킴으로써 matrix metalloproteinases(MMPs)와 같은 구조 단백질 분해효소를 활성화시켜 콜라겐 생성 및 탄력섬유의 합성을 감소시키고, 피부의 구조 단백질을 손상시킴으로써 피부 주름생성에 주된 원인이 되는 것으로 알려져 있다. 대표적으로 자외선은 activator protein-1(AP-1)을 활성화하고, TGF- $\beta$ 는 비활성화 시켜 피부를 구성하는 구조 단백질에 영향을 주는데(Rittie & Fisher 2002), 이러한 광노화를 예방하기 위해서는 콜라겐 합성을 증가시키고 matrix metalloproteinase와 같은 구조 단백질 분

\* Corresponding author : Jin-Hee Lee, Tel : +82-31-725-8368, Fax : +82-31-725-8350, E-mail : jhlee81@cha.ac.kr

해효소의 작용을 억제시키는 것이 중요하다(Fuji *et al* 2008).

인삼은 건강에 좋다고 인식되어 대중적으로 이용되는 약용 식물의 한 종류로서 추출하는 방법에 따라 항산화력이 높은 추출물을 만들 수도 있고(Kim & Kim 2007), 특정 약리효과를 높은 추출물로 제조할 수도 있다. 최근에는 한방화장품에 대한 관심이 높아지면서 인삼 또는 홍삼추출물을 이용한 피부에서의 기능성 연구가 많이 보고되고 있다. 인삼에 함유되어 있는 대표적인 사포닌 성분 중에 하나인 ginsenoside Rb1은 피부 섬유아세포에서의 콜라겐 생성과 MMP-1 활성을 억제한다는 보고가 있다(Kim *et al* 2007). 홍삼추출물(Kang *et al* 2009)이나 ginsenoside Rb1(Kim *et al* 2009)을 투여한 hairless mice에서 UV에 의한 주름의 생성 정도가 유의적으로 억제되고, 피부 표피의 두께 증가가 억제되는 결과가 확인되었다. 이는 UV에 의한 MMP-1의 발현 증가 및 콜라겐 생합성 감소를 시험물질이 억제하여 나타나는 현상으로 보고되고 있으며, 이에 영향을 미치는 주요성분은 ginsenoside Rb1인 것으로 보고되고 있다(Lee *et al* 2009). 그 외에도 홍삼에 함유된 ginsenoside 성분인 Compound K, Rg3, F1이 UV에 의한 피부세포의 손상을 예방하고, 히알루론산이나 콜라겐 생합성량을 증가시키는 것으로 보고되어 있다(Kim *et al* 2004, He *et al* 2011, Kim *et al* 2004, Lee *et al* 2003). 그러나 보고된 연구의 대부분이 홍삼추출물이나 홍삼 유래 사포닌에 관한 것으로, 인삼이나 인삼 추출물 또는 분획물에 대한 연구는 보고되어 있지 않다. 또한 ginsenoside 단일 성분으로의 연구가 일부 이루어져 있을 뿐, 특정 ginsenoside의 함량이 높은 인삼추출물에 대한 연구는 거의 이루어져 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 protopanaxadiol ginsenoside을 함유한 인삼추출물인 Ginseol K-b1을 제조하여, UVB로 광노화를 유발한 동물 모델에서 Ginseol K-b1이 피부손상에 미치는 영향을 평가하였고, 사람 피부섬유아세포(human skin fibroblasts)를 이용하여 콜라겐 생합성에 미치는 영향을 확인함으로써 인삼추출물의 먹는 피부 미용 소재로서의 가능성을 평가하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

본 실험에서 사용한 시료인 Ginseol K-b1은 국내산 4년근

백미삼을 풍기인삼농협에서 구매하여 중량 대비 15배(v/w)의 70% 주정으로 3회 반복 추출한 다음 회전식 진공농축기를 이용하여 농축시켰다. 농축액을 Diaion HP-20 수지에 흡착시킨 후, 80%와 100% 에탄올로 용출하여 protopanaxadiol ginsenoside 함량이 높은 용출액을 동결 건조하여 분말로 제조하였다. Ginsenoside 중 대표적인 protopanaxadiol ginsenoside로는 Rb1이 알려져 있어 표준물질(Wako, Japan) 및 분말 원료를 메탄올에 용해하여 HPLC(Agilent, Model HP1100 series)로 분석하였다. UV 203 nm에서 검출하였으며, 컬럼은 Venusil XBP C18 컬럼(250×4.6 mm ID, 5 μm, Agela Technologies)을 사용하였고, 이동상으로는 물(A) 80%와 아세트니트릴(B) 20%를 사용하여 20분간 안정화시킨 후, 20~24% B, 10~20 min; 24~27% B, 20~23 min; 27~40% B, 23~45 min의 기울기 조건 및 유속 1.6 mL/min으로 분석하였다. 본 시험에 사용한 원료는 ginsenoside Rb1을 230 mg/g 함유하고 있는 것으로 하였다.

### 2. 실험동물사육 및 실험물질 섭취

실험동물은 6 주령 암컷 hairless mouse(HOS : HR-1)를 JAPAN SLC INC.(Shizuoka, Japan)에서 구입하여 사용하였다. 동물 입수 후 일주일간의 순화기간을 거쳐 각각 10마리씩 3그룹으로 군 분리를 하여 실험에 사용하였다. 실험군은 정상군과 UV 조사군, Ginseol K-b1 섭취군(UV 조사 및 인삼추출물 섭취군)의 3군으로 나누어 10주 동안 실험을 실시하였다. 실험동물의 사육환경은 온도(23±3℃), 습도(55±15%) 그리고 시간 light/dark cycle을 유지하도록 하였다. 사료는 AIN-76A을 기본 식이로 하였으며, Ginseol K-b1 섭취군은 그 농도가 0.0625% (w/w)가 되도록 배합한 분말사료를 자유급여하도록 하였다 (Table 1).

### 3. UV 조사

광노화에 의한 주름을 유발하기 위하여 정상군을 제외한 UV 조사군과 Ginseol K-b1 섭취군에 매주 주 3회 동일한 시간에 UVB를 조사하였다. 첫째주는 54 mJ/cm<sup>2</sup>를 1 MED(minimal erythema dose)로 설정하여 UVB를 조사하였고, 주별로 1.5 MED, 2 MED로 조사량을 늘려가며 10주 동안 총 49 MED를

Table 1. Experimental group and design

Group	UVB irradiation	Test material	Diet
Normal control	None	None	AIN-76A diet
UV control	UVB irradiation	None	AIN-76A diet
Ginseol K-b1	UVB irradiation	Ginseol K-b1 <sup>1)</sup>	AIN-76A diet 0.0625% (w/w) of Ginseol K-b1

<sup>1)</sup> Ginseol K-b1 was *Panax ginseng* C.A. Meyer extract containing ginsenoside Rb1 of 230 mg/g.

조사하였다. 자외선 조사는 hairless mice의 등에서부터 26 cm 되는 거리에 설치하였으며, 정확한 자외선량 조사를 확인하기 위해 UV meter(Waldmann, Germany)를 이용하여 광량을 측정하였다.

#### 4. UV 조사에 의한 *In Vivo* 피부 손상에 미치는 영향 평가

UVB에 의한 주름생성 억제 효과를 판정하기 위해 주름의 정도를 육안관찰하고, 주름이 유발된 엉덩이 부위에서 실리콘 폴리머를 이용하여 피부주형(Replica)을 채취하였다. 제작한 피부주형은 빛의 입사각을 20도로 고정된 후, 주름 그림자 명암 영상을 CCD카메라(Charge coupled camera SDC-45, Samsung, Korea)로 찍어 이미지 파일화하여 Skin Visiometer SV600 software(Courage & Khazaka, Germany)를 이용하여 R1~R5의 값을 측정하였으며, 이는 IEC Korea(수원, 한국)에 의뢰하여 실시하였다. 피부의 보습 능력은 Corneometer(Courage & Khazaka, Germany)를 이용해 본 실험 7주와 10주차에 피부표피 수분량을 측정하였다. 피부탄력도는 Cutometer(Courage & Khazaka, Germany)를 이용하여 7주와 10주차에 측정하였다. 피부 수분량과 탄력도 평가는 마우스의 엉덩이 부위를 측정하였으며, 측정시마다 동일한 곳으로 하였고, probe의 측정면에 대한 압력은 일정하게 유지하였다. 시험물질 섭취에 따른 피부 표피두께의 변화를 확인하기 위해서 동물을 희생시킨 후 등 쪽 피부를 떼어내어 10% 포르말린에 고정시킨 다음 조직처리 과정을 거쳐 파라핀 포매하여 절편을 제작한 후, hematoxylin & eosin(H&E) 염색을 하여 Image Pro-Plus 4.5(Media Cybernetics, USA)를 이용하여 피부 표피두께를 측정하였다.

#### 5. *In Vitro* 피부섬유아세포에서의 세포증식 및 콜라겐 생성능 측정

사람 섬유아세포(human skin fibroblasts, NBIRGB)를 RIKEN (Saitama, Japan) 에서 구매하여 사용하였다. 구입한 세포를 10% fetal bovine serum(FBS)과 penicillin-streptomycin이 함유된 DMEM 배지를 이용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하며 실험에 사용하였다. 세포증식은 Hansen & others(1989)의 방법에 따라 3-(4,5-dimethylthiazolyl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT : Sigma Chemical Co., USA) 시약을 사용하여 측정하였다. 세포를 7.0×10<sup>3</sup> cell/well의 농도로 96 well plate에서 24시간 배양한 후, 배지에 용해된 시료를 각 well에 1.56~100 μg/mL의 농도로 첨가하여 3일간 배양하였다. 배양된 세포의 배지를 제거하고 MTT 용액을 첨가하여 4.5시간 반응시킨 후, SDS가 함유된 0.01 mol/L 염산용액을 첨가하여 형성된 formazan을 녹여 570 nm과 650 nm에서 흡광도를 측정하여 그 차이를 파란색 formazan 생성량으로 하여 측정하였다. 세포내 콜라겐 생합성량을 평가하기 위해서는 세포

를 1.6×10<sup>5</sup> cells/mL의 농도로 96 well plate에서 24시간 배양한 후, 0.25% FBS가 함유된 DMEM 배지에 용해된 시료를 각 well에 1.56~100 μg/mL의 농도로 첨가하여 3일간 배양하였다. 배양 후, 각 well의 배지 중의 콜라겐 양을 antibody를 이용한 ELISA법으로 측정하였다. 콜라겐 생합성 정도의 상대적 비교를 위해서 L-ascorbic acid phosphate magnesium(MAP, WAKO, JAPAN)을 양성대조군으로 사용하였다.

#### 6. 통계처리

실험결과는 MS Excel Program을 이용하여 유의성  $p < 0.05$  수준에서 Student-*t* test에 의해 대조군과 시험물질 처리군 간의 유의적인 차이를 검증하였다.

### 결과 및 고찰

#### 1. 임상증상, 체중변화 및 섭취량 관찰

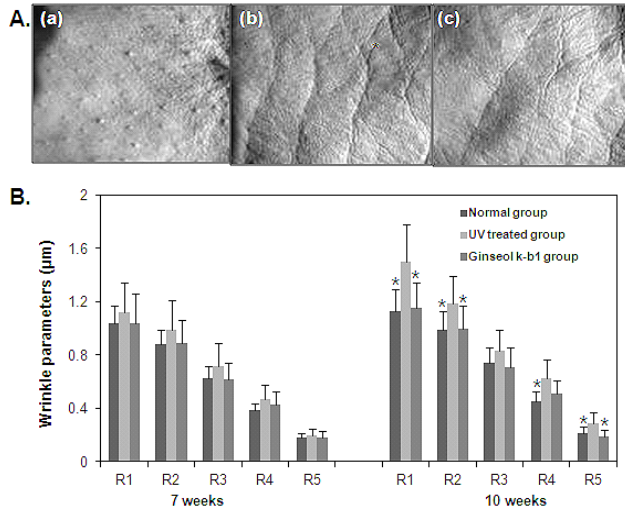
시험기간 동안 Ginseol K-b1 섭취군에서 1마리의 사망동물이 발생하였으나, 시험물질에 의한 사망은 아닌 것으로 확인이 되었다. 시험전의 동물은 군별로 20.32±0.32~20.49±0.43 g의 고른 체중범위를 나타내었고, 섭취 기간 동안 체중 변화에 대한 군간의 유의적 차이는 관찰할 수 없었다. UV 조사와 피부 주형 제작 및 기기 측정이 실험동물의 등과 엉덩이 부위에서 이루어졌기 때문에 강제 경구투여에 따른 피부에의 영향 및 장기간 강제 경구투여에 따른 스트레스를 최소화하기 위하여 시험물질을 사료에 혼합하여 자유 섭취하도록 하였다. 시험기간 동안 주 3회 사료 소비량을 측정하였고, 시험기간 동안 각 시험군의 평균 섭취량은 정상군 4.08±0.30 g, UV 조사군 4.08±0.23 g, Ginseol K-b1 섭취군 4.03±0.32 g으로 군간의 차이는 없었다. 사료의 평균섭취량으로 추정하였을 때, Ginseol K-b1 섭취군은 평균 25 mg/day의 시험물질을 섭취한 것으로 확인이 되었다.

#### 2. 인삼추출물(Ginseol K-b1)의 섭취가 UV에 의한 피부주름 생성에 미치는 영향

피부가 자외선에 노출이 되면 산화적 스트레스에 의해 여러 신호전달체계를 활성화시킴으로써 DNA 손상 및 구조 단백질 분해 효소를 활성화시켜 궁극적으로 피부의 탄력이 떨어지고 수분량이 감소하여 외면상으로는 주름이 생성되는 등의 광노화 손상 증상이 나타난다(Rittie & Fisher 2002). Hairless mice는 UV를 조사하면 피부 두께가 두꺼워지고 주름이 생성되는 피부 손상 변화를 나타내며, 인체의 피부와도 유사한 손상을 보이기에 광노화와 관련된 실험에 많이 사용되는 모델 중 하나이다(Kambayashi *et al* 2001, Kiss *et al* 1991).

UV를 조사하는 동안, UV 조사군에서는 정상군과 비교하

여 피부 주름 증가가 육안으로 관찰되었으며, Ginseol K-b1 섭취군은 UV 조사군에 비해 상대적으로 주름 형성이 억제되었다. 주름의 정도를 객관적으로 비교하기 위해 섭취 7주 및 10주에 제작된 피부 주형을 정량 분석하여 주름의 형성 정도를 구간 비교하였다(Fig. 1). 7주에는 육안으로 주름 형성이 관찰되나, 피부 주형에 의한 정량분석에서는 유의적인 구간 차이가 확인되지 않았다. 10주에는 좀 더 굵은 주름이 생성되었고, 주름 최대심도(R1) 값이 Ginseol K-b1 섭취군은  $1.15 \pm 0.19 \mu\text{m}$ 였으며, UV 조사군은  $1.50 \pm 0.28 \mu\text{m}$ 로 시험물질이 주름 형성을 유의적( $p < 0.05$ )으로 억제한 것을 확인하였다. 이는 Kang *et al*(2009)이 UVB를 조사한 hairless mice에 홍삼 주정추출물을 투여했을 때, 시험물질이 주름 생성을 유의적으로 억제하고, 이는 피부 조직에서 MMP-1 mRNA 발현이 억제되고, procollagen 단백질 발현이 증가되었기 때문이라고 보고한 것과 유사한 경향이라 사료된다. 또한 Kim *et al*(2009)과 Kim *et al*(2007)은 홍삼 유래 총사포닌과 ginsenoside Rb1이 피부 내 콜라겐 섬유의 분해를 억제하여 UV로 인해 야기되는 피부 노화를 억제하는 성분인 것으로 보고하였다. 이를 통해 본 연구에 사용한 Ginseol K-b1 또한 유사한 기작에 통하여 UVB에 의한 피부 주름 생성을 억제한 것으로 추정되



**Fig. 1. Effects of oral administration of the Ginseol K-b1 extract on UVB-induced wrinkle formation on hairless mice dorsal skin at week 7 and week 10.** A : Photographs of replica taken from the hairless mice dorsal skin (a) normal control, (b) UV control, UVB-irradiated mouse skin, (c) Ginseol K-b1, UVB-irradiated mouse skin orally administered ginseol K-b1 extract. B : Assessment of the skin roughness in hairless mice dorsal skin. The results are expressed as Mean  $\pm$  S.D. for parameters R1~R5 [ $\mu\text{m}$ ]. \* Significantly different from UV control group ( $p < 0.05$ ). R1 (Skin roughness), R2 (maximum roughness), R3 (average roughness), R4 (smoothness roughness), R5 (arithmetic average roughness).

며, 주요 protopanaxidiol ginsenosides의 세부 작용 기작을 확인하는 연구가 추가적으로 이루어져야 할 것으로 사료된다.

### 3. Ginseol K-b1의 섭취가 Hairless Mice의 피부 탄력, 피부 수분 함량 및 피부 표피 두께에 미치는 영향

피부의 탄력 측정에 있어서도 섭취 7주 후에 피부의 점탄성(viscoelastic)을 나타내는 지표인 R6(Uv/Ue) 지표가 UV 조사군과 비교하여 정상군과 Ginseol K-b1 섭취군에서 유의적으로 그 값이 작은 것을 확인할 수 있었으며, 이는 피부의 점탄성이 크다는 것을 의미한다. 또한 UV 조사군에 비해 탄력의 상대지표(Relative parameter)인 R2, R7에서는 Ginseol K-b1 섭취군의 탄력도가 높게 나타났다(Table 2). 피부 수분 함량 측정 결과에서는 섭취 7주 후에 UV 조사군에 비해 정상군과 Ginseol K-b1 섭취군의 피부 수분 함량이 모두 높았다(Table 3). Dobrev(2002)는 보습제 사용 후, Uv값이 변하며, 이는 피부 진피와 표피 각질층의 변화를 통해 나타나는 변화의 지표라고 보고하였다. 본 연구에서 Uv값이 반영된 R6 값이 Ginseol K-b1의 섭취에 따라 UV 조사군에 비해 유의적으로 감소한 것은 시험물질의 섭취가 피부 표면의 수분 함량을 높여 주어 피부의 점탄성 역시 높아지는 것이라 추론해 볼 수 있다. 이는 홍삼추출물을 투여한 마우스에서 피부 탄력 저하가 유의적으로 억제된다고 Kim *et al*(2008)이 보고한 결과와도 유사한 경향이라 사료된다.

UV에 의해 나타나는 피부 내 변화중 하나로써 염증이 발생하며 표피의 두께가 증가하는데, 표피 두께가 두꺼워지면서 궁극적으로는 주름 또한 생성이 되는 것으로 알려져 있다. Matsumoto *et al*(2010)는 UV에 의해 표피가 부어오르고 진피가 수축을 함에 따라 표피층이 진피층으로 밀려 들어가는 메커니즘으로 주름이 생성된다고 보고하였고, Lee *et al*(2005)의 연구에서도 홍삼과 대두혼합물을 hairless mice에 섭취시켰을 때, UV에 의해 증가하는 피부 표피 두께를 억제시키는 결과를 보고하였다. 따라서 Ginseol K-b1 섭취군에서 UV 조사군에 비해 34% 정도 유의적으로 피부 표피의 두께의 증가가 억제되었다는 것은 시험물질이 UV에 의한 피부 변화를 억제시키는 데에 영향을 주는 것이라 사료된다(Fig. 2).

Ginseol K-b1 섭취군이 *in vivo* 실험에서 이러한 효능을 나타낸 것은 인삼추출물이 피부 섬유아세포에 대한 증식을 자극하여 궁극적으로 피부 내 콜라겐 생성을 촉진하고, 이에 따른 주름 생성을 예방하는 것으로 생각된다. 이에 따라 Ginseol K-b1이 피부 섬유아세포 및 콜라겐 생합성에 미치는 영향을 평가하였다.

### 4. 피부섬유아세포 증식 및 콜라겐 생합성에 미치는 영향

피부조직에서 type I collagen은 콜라겐 섬유를 형성하여

**Table 2. Skin elasticity of hairless mice orally treated with Ginseol K-b1**

Group		Ua/Uf (R2)	Ur/Ue (R5)	Uv/Ue (R6)	Ur/Uf (R7)
7 weeks	Normal control	0.6541±0.1153	0.5698±0.1220	0.2377±0.0530**	0.4603±0.0942
	UV control	0.6365±0.0861	0.6138±0.1341	0.3169±0.0988	0.4640±0.0801
	Ginseol K-b1	0.8053±0.0694**	0.7432±0.1331**	0.2399±0.0950*	0.5981±0.0910**
10 weeks	Normal control	0.7305±0.0536*	0.6527±0.0772**	0.1955±0.0533**	0.5458±0.0606**
	UV control	0.7838±0.0583	0.7959±0.0724	0.2958±0.0843	0.6143±0.0388
	Ginseol K-b1	0.8289±0.0542	0.9006±0.0924**	0.3182±0.0699	0.6823±0.0564**

\* Significantly different from UV control group  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .

Skin elasticity is expressed as the physical variables R2 (Ua/Uf, portion between the max. amplitude and the ability of reformation of the skin), R5 (Ur/Ue, net elasticity), R6 (Uv/Ue, portion of the visco-elasticity on the elastic part of the curve) and R7 (Ur/Uf, portion of the elasticity compared to the complete curve) which are measured with Cutometer. These measurements were carried out 7 week and 10 week after treatment with ginseol K-b1. Values are represented the mean±S.D. of the results [n=10].

**Table 3. Skin moisture and Epidermal thickness of hairless mouse orally treated with Ginseol K-b1**

Group	Skin moisture (AU)		Skin thickness ( $\mu$ m)
	7 weeks	10 weeks	
Normal control	61.64±1.2*	70.38±1.5*	47.92±7.01***
UVB control	35.34±0.7	42.94±1.5	141.83±23.75
Ginseol K-b1	50.00±2.2*	49.4±1.5	93.57±13.38***

\* Significantly different from UV control group  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ .

Values represent the mean±S.D. of the results from 10 mice.

**Fig. 2. Histological section (Hematoxylin & Eosin (H & E) staining) of hairless mice dorsal skin exposed to UV irradiation.**

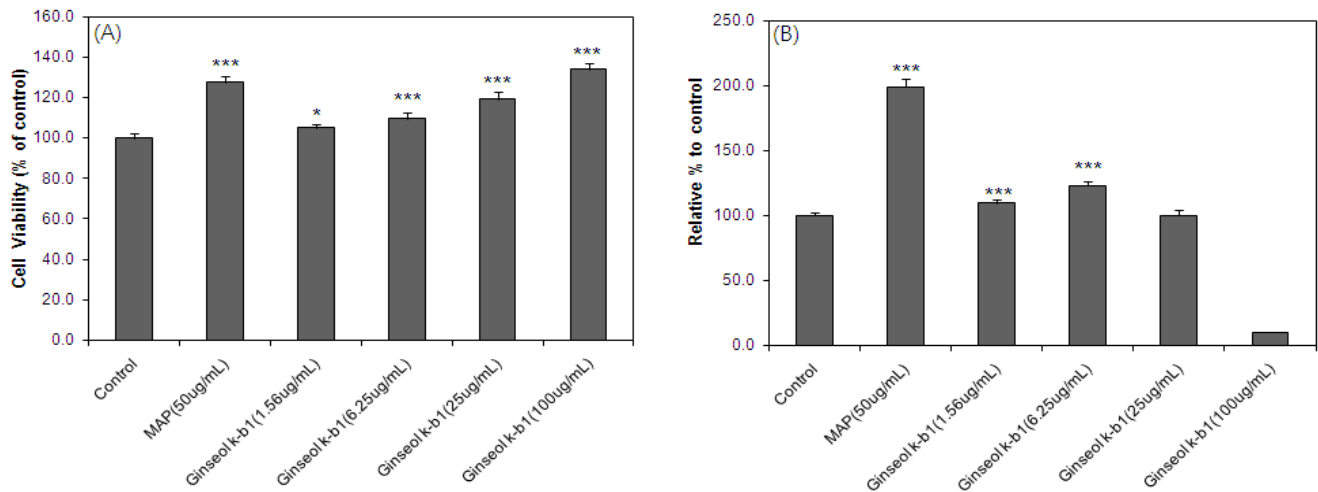
Original magnification  $\times 100$ . (a) UV non-irradiated normal control group. (b) UV-irradiated group. (c) UV-irradiated group treated with Ginseol K-b1.

피부의 결합성과 탄력성을 갖게 하기 때문에 광노화나 내인성 노화에 따른 주름의 측정지표로서 많이 활용이 되고 있다. 노화에 따라 콜라겐 섬유가 감소하면 피부가 처지고 탄성도 떨어지면서 주름이 발생하게 되는 것이다. Ginseol K-b1을 1.56~100  $\mu$ g/mL의 농도로 세포에 처리하여 배양하였을 때, 세포증식 및 콜라겐 생성에 미치는 영향을 평가한 결과는

Fig. 3과 같다. Ginseol K-b1을 처리한 모든 군에서 대조군에 비하여 농도 의존적으로 세포 증식이 촉진되는 것을 확인하였다. 그러나 콜라겐 생합성량의 경우, 1.56, 6.25  $\mu$ g/mL의 농도에서만 각각 110%, 123%로 유의적으로 증가하였으며, 상대적으로 높은 농도인 25  $\mu$ g/mL를 처리한 군에서는 콜라겐 생성량이 대조군 수준으로 감소하였고, 100  $\mu$ g/mL를 처리한 군에서는 콜라겐 생성을 촉진하지 않았다. 양성대조군인 L-ascorbic acid phosphate magnesium(MAP)을 처리한 군에서는 대조군과 비교하여 콜라겐 생성량이 2배 가량 높게 나타났다. L-ascorbic acid phosphate magnesium은 아스코르브산의 안정된 염의 형태로 섬유아세포에 처리시 아스코르브산과 유사하게 농도 및 시간 의존적으로 콜라겐 생합성을 증가시킨다고 알려져 있다(Geesin *et al* 1993). 또한 UVB에 대한 피부손상을 보호하는 효과를 가지고 있어 한국에서는 미백 기능성 화장품의 성분으로서도 사용이 되고 있다(Kobayashi *et al* 1996). 피부 주름 개선에 효과가 있어 많이 사용되는 retinoic acid의 경우, 고농도로 도포 시 피부조직에서 type I procollagen 생성이 오히려 감소하는 데, 이는 고농도에서 염증 세포를 활성화시켜 콜라겐 형성에 영향을 주는 것이라는 보고(Yoon *et al* 2011)된 점을 미루어 볼 때, Ginseol K-b1의 고농도(100  $\mu$ g/mL) 처리는 콜라겐 생합성을 저해하는 신호 체계에 영향을 주어 생성량이 조절되는 과정을 거치기 때문인 것으로 사료된다.

차외선으로 인한 주름 생성, 탄력 저하 등의 피부 광노화 과정은 여러 연구를 통해 제시되어 왔다. 본 연구에서는 Ginseol K-b1가 UV에 의한 피부 광노화 증상들로부터 피부를 보호하는 효과가 있음을 확인하였고, 섬유아세포에서 콜라겐 생합성을 촉진한다는 결과를 통해, Ginseol K-b1이 콜라겐 생합성 촉진을 통해 UV 손상으로부터 피부를 보호하는 작





**Fig. 3. Effect of Ginseol K-b1 treatment on cell proliferation (A) and procollagen production (B) in human dermal fibroblast cell.** MAP(magnesium ascorbyl-2 phosphate) was used as the positive reference compound. Results of cell viability and procollagen synthesis are expressed as the percent of O.D. value versus vehicle control. The results represent the mean±S.D. of three replicate. \* Significantly different from control group  $p<0.05$ , \*\*  $p<0.01$ , \*\*\*  $p<0.001$ .

용에 영향을 주었을 것이라 추론할 수 있었다. 그러나 *in vitro* 시스템에서 확인된 콜라겐 생성 촉진 작용이 UV에 의한 피부 손상을 유발한 동물 피부 조직에서도 동일하게 확인되는지에 대한 확인과 Ginseol K-b1의 분자생물학적 작용 기작을 밝히는 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## 요 약

*In vivo* 동물 모델에서 10주간의 자외선 조사에 의해 유발되는 피부 손상 및 사람 피부섬유아세포에 Ginseol K-b1이 미치는 영향을 확인하고자 하였으며, 그 연구결과를 요약하면 아래와 같다.

1. 반복적인 UV 조사에 의해 7주 후부터 hairless mice의 주름이 육안으로 확인되며, Ginseol K-b1 0.0625%(w/w) 농도로 함유한 사료의 10주간 섭취는 UV 조사군에 비해 유의적( $p<0.05$ )으로 주름 생성의 정도를 억제시켰다. 피부 표피 두께 역시 Ginseol K-b1섭취군은 UV 조사군에 비해 유의적으로 작았다.

2. UV 조사는 피부 수분 함량 및 탄력도를 감소시키며, Ginseol K-b1의 섭취는 표피 수분량 저하 및 탄력 감소를 유의적( $p<0.05$ )으로 억제하였다.

3. Ginseol K-b1은 사람 섬유아세포의 세포 증식을 유의적( $p<0.001$ )으로 촉진시켰으며, 저농도(1.56~6.25  $\mu\text{g/mL}$ )에서 콜라겐 생성량을 유의적으로 증가시켰다.

이상의 결과에서 Ginseol K-b1은 피부 섬유아세포의 증식 및 콜라겐 생성을 촉진함으로써 피부 표면의 주름 생성 및 탄력 저하 억제를 통해 UV로 인한 피부 손상으로부터 피부를

보호하는 효과가 있는 것으로 보이며, 이는 화장품이 아닌 먹는 피부 미용 소재로서의 가능성이 높음을 평가할 수 있다. 그러나 세포내 신호 전달 체계에 대한 추가적인 연구가 이루어져 기작에 대한 명확한 설명이 필요할 것으로 사료된다.

## 문 헌

- Boelsma E, Hendriks HF, Roza L (2001) Nutritional skin care : health effects of micronutrients and fatty acids. *Am J Clin Nutr* 73: 853-864.
- Cadet J, Sage E, Douki T (2005) Ultraviolet radiation-mediated damage to cellular DNA. *Mutation Research* 571: 3-17.
- Chung JH (2010) Dermatogerontology. Hauri, Korea. pp 241-250.
- Dobrev HP (2002) A study of human skin mechanical properties by means of cutometer. *Folia Medica* 44: 5-10.
- Fuji T, Wakaizumi M, Ikami T, Saito M (2008) Amla (*Emblica officinalis* Gaertn.) extract promotes procollagen production and inhibits matrix metalloproteinase-1 in human skin fibroblasts. *J Ethnopharmacology* 119: 53-57.
- Geesin JC, Gordon JS, Berg RA (1993) Regulation of collagen synthesis in human dermal fibroblasts by the sodium and magnesium salts of ascorbyl-2-phosphate. *Skin Pharmacol* 6: 65-71.
- He D, Sun J, Zhu X, Nian S, Liu J (2011) Compound K increases type I procollagen level and decreases matrix metalloproteinase-1 activity and level in ultraviolet-A-irradiated

- ted fibroblasts. *J Fosmos Med Assoc* 110: 153-160.
- Ichihashi M, Ando H, Yoshida M, Niki Y, Matsui M (2009) Photoaging of the skin. *Anti-Aging Medicine* 6: 46-59.
- Kambayashi H, Yamashita M, Odake Y, Takada K, Funasaka Y, Ichihashi M (2001) Epidermal changes caused by chronic low-dose UV irradiation induce wrinkle formation in hairless mouse. *J Dermatol Sci* 27(Suppl. 1): S19-S25.
- Kang TH, Park HM, Kim YB, Kim HN, Kim NM, Do JH, Kang CH, Cho YH, Kim SY (2009) Effects of red ginseng extract on UVB irradiation-induced skin aging in hairless mice. *J Ethnopharmacology* 123: 446-451.
- Kim NM, Koo BS, Lee SK, Hwang EI, So SH, Do JH (2007) Effect of Korean red ginseng on collagen biosynthesis and MMP-1 activity in human dermal fibroblast. *J Ginseng Res* 31: 86-92.
- Kim SH, Kim YM (2007) Determination of the antioxidant capacity of Korean ginseng using an ORAC assay. *J East Asian Soc Dietary Life* 17: 393-401.
- Kim SJ, Kang BY, Cho SY, Sung DS, Chang HK, Yeom MH, Kim DH, Sim YC, Lee YS (2004) Compound K induces expression of hyaluronan synthase 2 gene in transformed human keratinocytes and increase hyaluronan in hairless mouse skin. *Biochem Bioph Res Co* 316: 348-355.
- Kim SW, Jeong JH, Jo BK (2004) Anti-wrinkle effect by ginsenoside Rg3 derived from ginseng. *J Soc Cosmet Scientist Korea* 30: 221-225.
- Kim YG, Sumiyoshi M, Kawahira K, Sakanaka M, Kimura Y (2008) Effects of red ginseng extract on ultraviolet B-irradiated skin change in C57BL mice. *Phytother Res* 22: 1423-1427.
- Kim YG, Sumiyoshi M, Sakanaka M, Kimura Y (2009) Effects of ginseng saponins isolated from red ginseng on ultraviolet B-induced skin aging in hairless mice. *Eur J Pharmacol* 602: 148-156.
- Kiss I, Chen S, Trampusch KM (1991) The effects of high and low ultraviolet-B dose exposure on the degree of hairless mouse skin wrinkling. *Photochem Photobiol* 53: 109-112.
- Kobayashi S, Takehana M, Itoh S, Ogata E (1996) Protective effect of magnesium-L-ascorbyl-2 phosphate against skin damage induced by UVB irradiation. *Photochem Photobiol* 64: 224-228.
- Lee EH, Cho SY, Kim SJ, Shin ES, Chang HK, Lee TR (2003) Ginsenoside F1 protects human HaCaT keratinocytes from ultraviolet-B-induced apoptosis by maintains constant levels of Bcl-2. *J Invest Dermatol* 121: 607-613.
- Lee HJ, Kim JS, Song MS, Seo HS, Moon CJ, Kim JC, Jo SK, Jang JS, Kim SH (2009) Photoprotective effect of red ginseng against ultraviolet radiation-induced chronic skin damage in the hairless mouse. *Phytother Res* 23: 399-403.
- Lee JH, Lee BS, Yang MS, Byun BS, Kim WG, Kim BH, Lee SJ (2005) Prevention of photoaging and wrinkle formation in hairless mice dorsal skin by APB-03. *Korean J Food Sci Technol* 37: 989-996.
- Matusmoto T, Ikuta N, Mori M, Nagayama N (2010) Mechanics of wrinkle formation : Micromechanical analysis of skin deformation during wrinkle formation in ultraviolet-irradiated mice. *Skin Res Technol* 16: 179-189.
- Rittie L, Fisher GJ (2002) UV-light-induced signal cascades and skin aging. *Ageing Res Rev* 1: 705-72.
- Yoon HS, Kim YK, Chung JH (2011) High concentration all-trans retinoic acid induces dermal inflammation, and reduces the accumulation of type I procollagen in human skin *in vivo*. *Brit J Dermatol* 165: 669-672.

---

접 수: 2011년 11월 25일  
 최종수정: 2012년 4월 20일  
 채 택: 2012년 4월 23일