

요엽후박나무 추출물의 입술 주름 개선에 대한 연구

이 선 주[†] · 김 미 나 · 박 성 범 · 김 기 영 · 박 선 규 · 김 미 선 · 강 내 규

(주)LG생활건강 기술연구원

*한국화학연구원 의약바이오연구본부 바이오기반기술연구센터

(2019년 3월 8일 접수, 2019년 3월 15일 수정, 2019년 3월 19일 채택)

Effects of *Magnolia Officinalis* Bark Extract on Improvement of Lip Wrinkles

Seonju Lee[†], Mina Kim, Sung Bum Park^{*}, Ki Young Kim^{*}, Sun-Gyoo Park, Mi-Sun Kim, and Nae-Gyu Kang

R&D center, LG Household & Healthcare Ltd., 70, Magokjungang 10-ro, Gangseo-gu, Seoul 07795, Korea

^{*}Bio Platform Technology Research Center, Therapeutics & Biotechnology Division, Korea Research Institute of Chemical Technology, 141 Gajeongro, Yuseong, Daejeon 34114, Korea

(Received March 8, 2019; Revised March 15, 2019; Accepted March 19, 2019)

요 약: 입술은 각질층이 매우 얇아 수분증발에 취약하며, 노화 과정에서 주름이 증가하고, 붉은색을 잃으며, 볼륨이 감소하게 된다. 매력적인 입술을 가지기 위해 시행되는 지방이식, 필러 주입을 대체하기 위한 성분에 대한 연구는 아직 보고된 바가 거의 없으며, 최근 새로운 지방세포의 수를 증가시키는 것이 인체 내 지방을 늘릴 수 있는 방법으로 제안되고 있다. 우리는 선행연구에서 지방줄기세포를 지방세포로 분화 유도하는 천연 물질로써 요엽후박나무 추출물(*Magnolia officinalis* bark extract)의 우수한 효능을 확인하였다. 본 연구에서는 요엽후박나무 추출물이 바이오 프린팅으로 제작한 지방 유사 구조체에서 지방(lipid droplet)의 양을 증가시키면서 분화를 촉진시킴을 3D 수준에서 확인하였다. 다음으로 입술 주름에 미치는 영향을 확인하기 위해 주름 사진으로 부터 명암값의 표준편차(SDGV)를 J 이미지 소프트웨어를 사용하여 측정함으로써 객관적 측정 방법을 확립하였고, 주름 정도에 따른 입술 주름 그레이드를 도출하여 정량화하였다. 결과적으로 요엽후박나무 추출물 1%를 함유한 제품을 12주간 사용했을 때, 입술 주름을 유의하게 개선시킬 수 있음을 확인하였다. 본 연구 결과는 요엽후박나무 추출물이 지방줄기세포를 지방세포로 분화 유도하는 효능을 가지며, 이러한 효능이 입술 주름을 개선하는데 도움을 줄 수 있다는 점을 시사하고, 따라서 요엽후박나무 추출물은 입술 주름과 볼륨을 개선하는 화장품 후보 소재로 적용 가능하다는 것을 보여준다.

Abstract: Lips have a defect in maintenance of moisture due to their thin layer. As aging progresses, lips lose volume and redness, and become wrinkled. Fat grafting and filler surgery have been used to achieve attractive lips, but little research has been reported to develop better materials to replace the present methods. Recently, a study suggests that the increase of adipocyte number can be enhancing the expansion endogenous fat. In previous study, we identified that the efficacy of *Magnolia officinalis* bark extract (MOBE) was effective on the induction of adipogenic differentiation. In this study, we confirmed that MOBE enhanced the differentiation of human adipose-derived stem cells on the fat mimic 3D structure built by 3D bioprinting method. From further experiments in human, we established a method to quantify the severity of lip wrinkle by measurement of standard deviation of gray value using Image J software. Finally, we found that topical treatment with 1% MOBE formulated lip balm significantly improved the lip wrinkle after using for 12 weeks.

[†] 주 저자 (e-mail: seonju@lghnh.com
call: 02)6980-1752

In conclusion, these findings suggest that MOBE has great potential, as a cosmetic ingredient, to reduce the lip wrinkle through the effect of promoting adipogenic differentiation.

Keywords: lip wrinkle, human adipose derived stem cell, adipocyte differentiation, *Magnolia officinalis* bark extract

1. 서 론

입술은 신체 부위 중 움직임이 많은 부위 중 하나로, 끊임없는 수축과 팽창을 겪게 된다. 또한 입술은 다른 부위의 피부보다 각질층이 매우 얇아 수분증발에 취약하며 식습관, 물리적 자극, 건조한 날씨와 같은 외부 자극에 의해 쉽게 손상된다[1,2]. 이러한 원인들로 인해 노화가 진행되어 입술의 매력적인 형태를 잃고 주름이 증가하며 붉은색을 잃어가는 등의 노화 징후가 나타나게 된다[3-7].

입술에 발생한 노화 현상을 개선하여 주름 없이 매끈하고 볼륨 있는 매력적인 입술을 가지기 위해 다양한 방법들이 시도되어 왔으며[8,9], 한 가지 방법으로 식약처에서 인정한 주름 개선 기능성 고시 성분을 이용하여 나이가 들수록 감소하는 콜라겐을 증가시켜 줌으로써 입술 주름을 개선하는 방법이 보고되었다[10]. 이보다 적극적인 방법으로는 히알루론산 필러를 주입하는 방법과 자가 지방을 이식하는 피부과 전문적 시술이 시행되고 있다[11,12]. 이는 다른 방법에 비해 우수한 효과를 나타내지만 비용이나 시술 과정 및 시술 후 관리의 번거로움, 부작용에 대한 우려 등이 존재한다[13]. 즉, 현존하는 입술 관리 방법은 각각의 장단점이 뚜렷이 존재하며 이를 보완하여 부작용 없이 효과를 줄 수 있는 기술 개발이 진행되고 있다. 최근 TRPV1 관련 기작을 통해 입술 볼륨을 증가시키는 소재나 지방층을 증진시키는 시작과 관련된 소재 및 기술에 대한 연구가 주목받고 있다[14,15].

얼굴에서 피하 지방층은 전체적인 볼륨감과 함께 매끈한 곡선을 유지해주어 보다 이상적인 페이스 라인을 구축하게 해준다[16,17]. 특히 볼 부위에 지방이 없으면 생기 없는 얼굴로 보이기 쉬우며 뼈의 윤곽이 드러나 강한 인상을 주게 된다[18]. 즉, 알맞은 위치에 적당량의 지방은 동안 얼굴로 가꿀 수 있는 좋은 방법이지만 지방층 또한 피부 노화에 따라 감소하는 현상을 보이며[19], 또한 지방의 감소에 의해 얼굴 볼륨이 감소한다는 연구 결과가 보고되었다[20]. 피부 지방층에 변화를 유도하기 위한 방법으로 지방전구세포나 지방줄기세포를 지방세포로 분화 유도하여 지방층을 강화하는 전략이 제안되고 있다[15,21]. 이에

본 연구에서는 요엽후박나무 추출물(*Magnolia officinalis* bark extract)을 이용하여 지방줄기세포 분화 촉진 효능 및 입술 주름 개선 효능을 검토하고자 하였다.

요엽후박나무는 목련과 목련속에 속하는 90종의 나무 중 하나로, 우수한 항산화 및 항염 효능을 가져 일본과 중국에서 오랫동안 약초로 이용되어 왔다[22,23]. 가장 대표적으로는 위장평활근을 이완시키거나 타액과 위액의 분비를 촉진시키는 기작을 통해 위장질환 치료에 활용되었다[24,25]. 피부와 관련된 효능으로는 요엽후박나무가 가지는 항산화 효능에 의한 피부 질병 치료에 대한 연구가 보고된 바 있으며 일본목련(*Magnolia obovata*)의 추출물 및 그 주요 성분인 magnolol은 UV나 염증 및 산화 스트레스 등에 반응하여 진행되는 피부 광노화 과정의 주요 관여 인자인 NFκB가 핵 내부로 이동하는 과정을 억제함으로써 피부 광노화를 예방한다는 연구 결과가 보고되었다[26,27].

요엽후박나무 추출물의 주요 성분으로는 α,β-pinene, limonene, magnolol과 honokiol 등이 있으며, 그 중 약리학적 연구가 활발하게 진행된 성분은 앞서 언급한 magnolol이다. Magnolol은 요엽후박나무 추출물과 유사하게 항염 효능 및 스트레스로 인한 위궤양에서 보호 효능을 가진다는 사실이 잘 알려져 있으며[25] 이 외에도 근수축 억제[28], 암 전이 억제[29]에 대한 효능이 보고되었다. 또한 magnolol 및 honokiol이 NFκB의 하위 pathway인 MEKK-1을 억제함으로써 항염 효과를 가진다는 연구결과가 보고된 바 있다[30]. 또한 쥐의 지방전구세포를 이용한 연구결과로 magnolol은 PPAR-γ 및 하위 유전자들의 발현을 촉진함으로써 지방전구세포의 지방세포로의 분화를 촉진한다는 사실도 보고되었다[31]. 그러나 요엽후박나무 추출물을 처리하여 피부 주름 혹은 볼륨이 개선되는지 여부에 대한 직접적인 연구결과는 아직까지 보고된 바가 없다. 따라서 본 연구는 요엽후박나무 추출물이 바이오 프린팅으로 제작한 3D 구조체에서 지방세포 분화를 촉진시키는지 확인하고, 입술 주름 및 보습 개선에 미치는 영향에 대해 규명하고자 하였다.

2. 재료 및 실험 방법

2.1. 세포배양 및 시약

인간지방유래줄기세포는 (주)세포바이오(한국)으로부터 공급받았으며, 10% fetal bovine serum (FBS, Thermo Scientific, USA), penicillin 50 U/mL, streptomycin 50 µg/mL (Invitrogen, USA)을 첨가한 Human adipose tissue-derived MSC growth medium (주)세포바이오, Korea) 배지를 사용하여 37 °C, 5% CO₂가 공급되는 배양기에서 배양하였다. 3D dispensing system을 이용하여 1 X 10⁶개의 세포를 hydrogel mixture에 seeding 하였다. 지방줄기세포 분화 실험을 위해 세포가 포함된 hydrogel scaffold를 100 µg/mL insulin, 2.5 mM isobutylmethylxanthine, 4 µM dexamethasone, 4 µM indomethacin이 첨가된 분화용 배지에서 배양하면서 실험 물질들을 4일간 처리한 뒤 분석을 진행하였다.

본 실험에서 사용한 요업후박나무 추출물은 보라(한국)로부터 구매한 것으로, 나무의 껍질만을 채취하여 초임계추출법으로 제작되었으며, high performance liquid chromatography(HPLC)를 이용하여 추출물의 성분을 분석하였다. Magnolol, honokiol 및 양성대조군인 rosiglitazone은 Sigma-Aldrich (USA)에서 구입하여 사용하였다.

2.2. 3D 바이오프린팅

Hydrogel을 골격으로 한 인간지방유래줄기세포가 포함된 지방유사 구조체 제작을 위해 한국화학연구원(KRICT, Korea)에 세팅되어 있는 3D 프린팅 시스템을 이용하였다 [32]. 이 3D 프린팅 시스템은 x-y-z stage, dispenser, syringe nozzle, compression controller, 컴퓨터 시스템(Protek, Korea)으로 구성되어 있다. 세포 분사 시스템의 압력은 650 kPa, 속도는 150 mm/s로 세팅되었으며, 디스펜서 내부는 지속적으로 일정한 공기압으로 유지되었다. hydrogel 혼합물에 30 mg/mL alginate, 0.5 mg/mL gelatin, 0.5 mg/mL type I collagen (Sigma-Aldrich, USA)을 첨가하여 세포와 함께 넣어준 뒤 200~300 µm 크기의 노즐을 이용하여 분사시켜 주었다. 분사된 3D 구조체는 경화시킨 뒤 growth medium으로 옮겨 세포를 배양해주었다.

2.3. 형광 이미지

인간지방유래줄기세포의 분화를 유도하고 4일 뒤 4% formaldehyde를 15 min 처리하여 세포를 고정시켜 주었다. 고정된 세포에 BODIPY 493/503 (Invitrogen, USA)를 30

min 처리한 뒤 PBS로 3번 washing 후 형광 현미경(Eclipse Ti2, Nikon, Japan)을 이용하여 관찰하였고, 이미지 촬영을 위해 Nikon (Japan)사의 카메라(DS-Ri2) 및 NIS-Element Br (basic research) software를 이용하였다. 형광의 정량화를 위해 데이터 분석 프로그램 Prism 6 software (GraphPad, USA)를 이용하였다.

2.4. 피험자 및 임상시험 조건

입술 주름 개선에 대한 임상시험은 생명윤리위원회 (Institutional Review Board, IRB, Korea)의 승인(LGHH-20180223-AA-03) 후 (주)LG생활건강 기관생명윤리위원회의 표준 운영지침 및 임상시험 기준에 따라 실시되었다. 입술에 주름이 많은 20 ~ 50대 성인으로 피부과 외관상 큰 이상이 없으며 시험 시작 전 1달 내에 피부과 시술 경험이 없는 건강한 피험자 8명(1차), 12명(2차)을 선정하였다. 피험자의 성별은 여성으로 한정하였고, 그 이유는 첫째로 노화에 따른 입술 피부 두께 감소율이 남성보다 여성에서 더 확연하기 때문에[33] 실험 결과 관찰에 용이할 것으로 생각되었기 때문이다. 두 번째 이유는 남녀 189명을 대상으로 시행한 입술 관련한 사전 설문조사에서 입술 케어에 대한 관심도 및 립제품 사용 빈도가 여성에서 월등히 높아 실험 참여에 여성이 보다 적합할 것으로 판단되었기 때문이다.

1차 시험의 경우 12주, 2차 시험의 경우 2주 동안 인체 시험을 진행하였으며, 인체 시험용 제품은 요업후박나무 추출물 1%를 적용하여 제조하였다. 다른 제품을 사용하지 않은 상태에서 하루 3회 이상 입술에 발라 흡수시켜 사용하도록 하였다. 시험 대상자가 시험제품을 사용하는 기간 동안 특별한 피부 이상반응은 없었다.

2.5. 입술 주름 측정

입술 주름 평가를 위해 Janus-1 (PIE, Korea)를 이용하여 사진 촬영을 실시하였다. 입술 주름의 정량화는 Image J를 이용하였으며, 주름이 깊을수록 이미지 상에서 진한 명암을 나타내는 원리를 이용하여 주름의 명암값을 도출하였다. 아랫입술 중에서도 눈에 잘 띄고 깊은 주름이 많은 중앙 부분을 피험자마다 일정한 길이(얇은 입술의 경우 230 pixel, 보통 이상 입술의 경우 300 pixel)만큼 선택한 뒤 1pixel 마다 해당하는 gray value를 구해주었으며 전체 선택한 범위에 해당하는 gray value 값을 그래프로 나타내었다. 또한 이 그래프에서 pixel별 gray value 값을 이용하여 표준

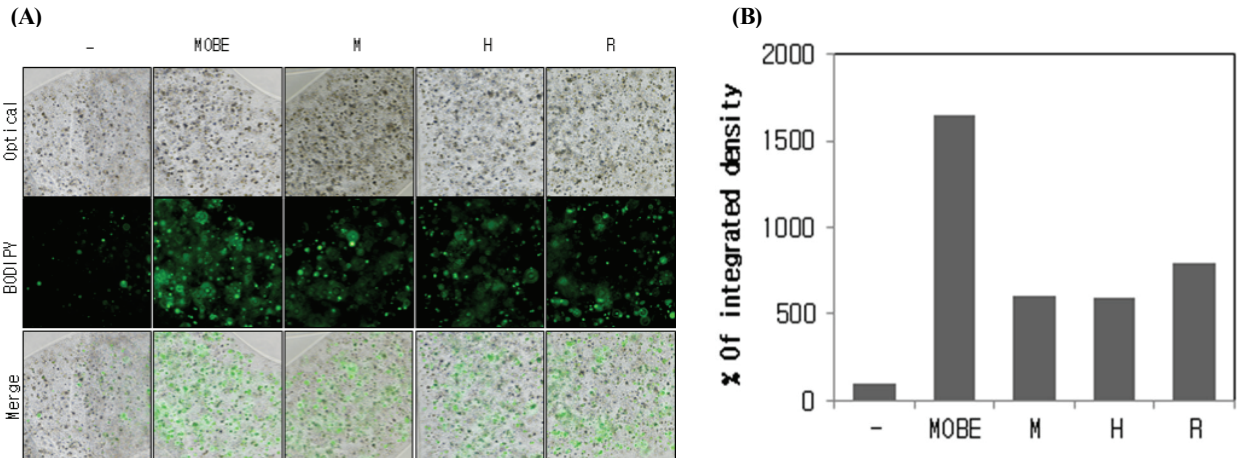


Figure 1. Effect of *M. officinalis* bark extract (MOBE) on adipogenesis in 3D-cultured human adipose-derived stem cells. (A) MOBE (5 µg/mL), Magnolol (M, 2.5 µg/mL), Honokiol (H, 2.5 µg/mL) and rosiglitazone (R, 1 µM) were treated for 4 days. After that the differentiated adipocytes were stained with BODIPY. (B) Quantification of adipocytes stained with BODIPY in (A) using GraphPad Prism 6 software.

편차를 구하고 이를 standard deviation of gray value 값으로 나타내었다.

2.6. 입술 보습 및 색 측정

입술 보습 평가를 위하여 시험대상자는 실내온도 20 ~ 25 °C, 습도 40 ~ 60%의 항온항습 조건에서 10 min 간 안정을 취하여 입술피부 표면 온도와 습도를 동일 환경에 적응시킨 후 실험을 진행하였다. 피험자가 안정을 취하는 동안에는 음식물 및 수분 섭취를 제한하였다.

입술 보습은 보습 측정용 probe (Janus-1, PIE, Korea)를 이용하였으며 매 측정 시 동일한 부위인 아랫입술 중앙 지점을 측정하였고, 각 측정은 2번 반복 수행하여 평균값을 사용하였다.

입술 색은 CR-400 (Konica Minolta, Japan)을 이용하여 입술 보습 측정한 동일한 부위를 측정하였다. 각 측정은 3회 반복 수행하여 평균값을 구하였다.

2.7. 통계처리

본 연구의 실험 결과는 평균값 ± 표준편차로 나타내었다. 통계적 유의성은 Wilcoxon rank sum test (SPSS verion 21, IBM, USA)로 분석하였으며, 유의성 검증 결과는 * $p < 0.1$, ** $p < 0.05$ 로 표시했다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 요엽후박나무 추출물의 지방줄기세포 분화 촉진 효능

요엽후박나무 추출물이 줄기세포를 지방세포로 분화를 유도하는지 확인해보기 위하여 3D 바이오프린팅 시스템을 이용하였다. Hydrogel을 골격으로 한 인간지방유래줄기세포를 분화용 미디어에서 배양하면서 요엽후박나무 추출물을 함께 4일간 처리하였다. 실험에 사용한 요엽후박나무 추출물의 주요 구성 성분은 magnolol과 honokiol이 1 : 1 비율로 포함되어 있음을 HPLC 분석을 통해 확인하였고(data not shown) 요엽후박나무 추출물과 함께 성분 magnolol과 honokiol도 각각 처리하였다. 양성대조군으로는 rosiglitazone을 처리하였다. 분화 유도 4일 후 세포를 고정시키고 BODIPY로 염색하여 lipid droplet을 형광현미경을 이용해 관찰하고 각 실험군별 결과를 가장 잘 나타내는 대표 구역에 대한 이미지를 Figure 1A에 나타내었으며, 각 이미지의 형광 세기를 정량화하여 Figure 1B와 같이 그래프로 나타내었다. 그래프에서 알 수 있듯이 물질을 처리하지 않은 음성 대조군과 비교하였을 때 요엽후박나무 추출물이 지방줄기세포를 지방세포로 분화 유도되어 지방량이 증가하는 것을 알 수 있었다. 요엽후박나무 추출물은 magnolol, honokiol 및 양성대조군으로 사용한 rosiglitazone보다 지방세포로의 분화 효능이 뛰어남을 확인할 수 있었다.

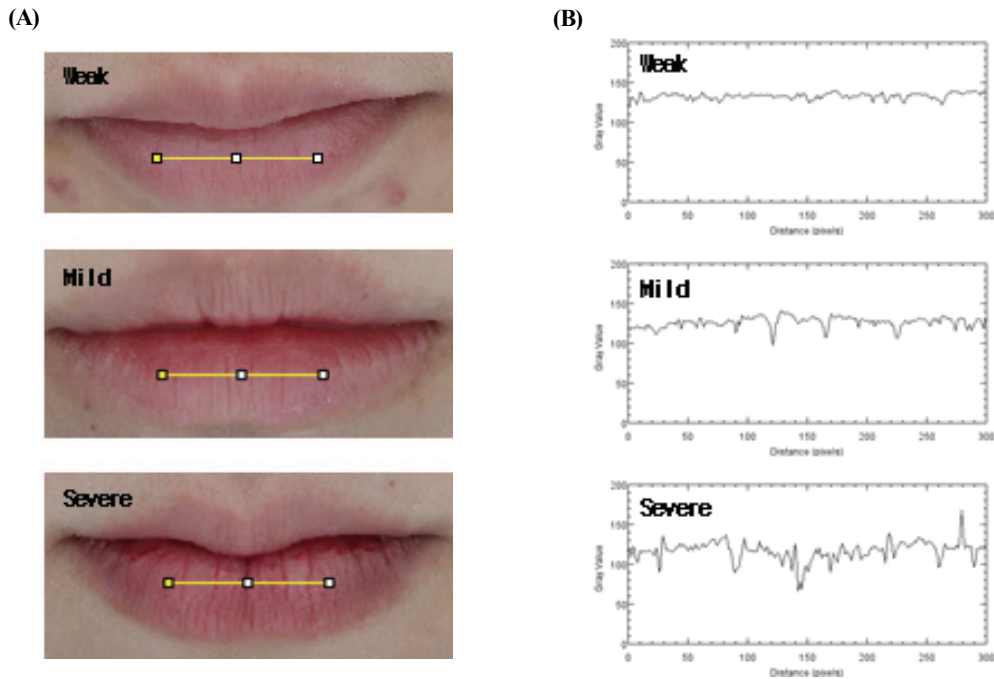


Figure 2. The measurement method of lip wrinkle and grading. Lip wrinkle severity was measured through getting standard deviation of gray value (SDGV) at the defined area by a yellow line. (A) Images of lip using Janus and quantification of lip wrinkle by ImageJ software. (B) Gray value profile.

3.2. 입술 주름 측정법 및 주름 정도에 따른 그레이드

입술 역시 다른 피부와 마찬가지로 노화할수록 본래의 구조를 잃어 빈약하고 주름 많은 입술이 된다. 우리는 *in vitro*에서 요엽후박나무 추출물이 피하지방층의 변화를 유도해 입술에 나타나는 다양한 노화 징후를 개선할 수 있을 것이라고 가정하고 대표적인 노화징후인 입술 주름 개선을 확인하고자 다음 연구를 진행하였다. 입술 주름 측정법은 지금까지 잘 확립되어 있지 않기 때문에 본 연구에서는 이미지 기반의 주름 측정에 대한 기존 보고를 참고하여 [10,34,35] 이미지로부터 입술 주름 측정의 기준을 세우고자 Figure 2와 같이 3가지 그레이드를 도출하였다. 2.4에 설명한 방법으로 입술 주름을 측정하였을 때, 깊은 주름이 많을수록 픽셀별 gray value의 편차가 커 Figure 2의 severe 그래프와 같이 높낮이 변화가 심한 그래프를 형성하게 되고, 주름이 없고 열을수록 Figure 2의 weak 그래프와 같이 높낮이 변화가 거의 없는 일직선에 가까운 그래프를 형성하게 된다. 이 그래프의 높낮이 변화를 정량화하기 위해 1부터 300pixel 까지 gray value의 표준편차 값(SDGV)을 구하였으며, 그 결과 SDGV 값이 클수록 주름이 진하고 SDGV 값이 작을수록 주름이 얇은 상관관계를 가졌다

Table 1. Grading of Lip Wrinkle in regarding to SDGV

Lip wrinkle grade	Lip wrinkle severity	Range of SDGV
Grade 1	Weak	SDGV < 6
Grade 2	Mild	6 ≤ SDGV <9
Grade 3	Severe	SDGV ≥ 9

(Table 1). SDGV 값 및 입술 주름의 심한 정도에 따라 입술 주름 그레이드를 Table 1에 나타내었다. 주름이 가장 얇은 그룹은 그레이드 1에 해당하며 이 그룹의 SDGV는 6이하였고, 주름이 중간 정도의 그룹은 그레이드 2에 해당하며 이 그룹의 SDGV는 6이상 9미만이었다. 마지막으로 주름이 가장 심한 그룹은 그레이드 3에 해당하며 이 그룹의 SDGV는 9이상이었다. 입술 주름 그레이드와 SDGV 기준은 제품 도포 후 주름 개선 효과를 해석하는 과정에 활용하였다.

3.3. 요엽후박나무 추출물의 입술 주름 개선 효능

In vitro 실험에서 확인하였던 요엽후박나무 추출물이 가지는 지방줄기세포의 지방세포로의 분화 촉진 효능이 실

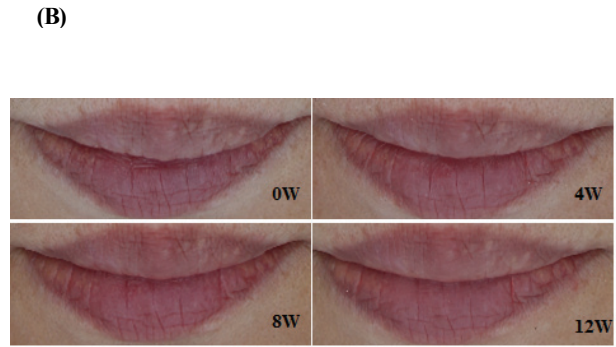
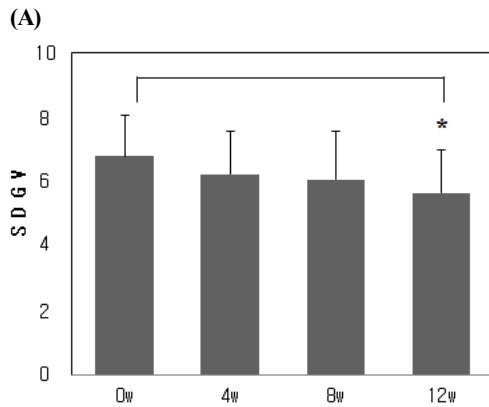


Figure 3. The improvement of lip wrinkles after topical application of the lipstick containing MO. (A) Time-course change of lip wrinkles at 4-week interval measured by SDGV ($n = 8$, $* p < 0.1$). (B) Representative pictures of subject with weak lip wrinkle at 0, 4, 8, 12 weeks after topical application (Janus).

Table 2. The Change of SDGV in Each Group

Lip wrinkle severity	0w	12w	Rate of reduction (%)
Weak ($n = 3$)	5.3 ± 0.6	4.4 ± 0.8	16.9
Mild ($n = 4$)	7.2 ± 0.7	5.9 ± 1.7	18.0
Severe ($n = 1$)	9.8	8.5	13.2

The results are expressed as the means \pm S. D

제로 사람의 입술 주름 개선에 영향을 주는지 확인하기 위하여 요엽후박나무 추출물을 1% 함유한 제품으로 인체 적용 시험을 실시하였다. 야누스를 이용하여 촬영한 일반광 이미지를 분석하여 SDGV 값을 얻었으며 이를 비교하여 요엽후박나무 추출물에 의한 입술 주름 개선율을 도출하였다. 4주 간격으로 총 12주에 걸쳐 실시한 측정 결과, Figure 3A에서 볼 수 있듯이 SDGV 값이 서서히 감소하여 12주차에는 0주차의 SDGV 값(6.8) 대비 약 16.2%의 SDGV 감소율을 보였다. 특히 12주 분석 결과는 0주차 SDGV 값과 비교했을 때 유의미한 수준의 차이를 보여주었고($p < 0.1$) 이를 통해 요엽후박나무 추출물이 입술 주름 개선 효과가 있다는 사실을 확인할 수 있었다. Figure 3B의 대표 이미지에서도 육안으로도 구별되는 수준으로 주름이 개선됨을 확인하였다.

또한, 실험에 참여한 사람을 대상으로 Table 1에서 나누었던 그룹에 따라 요엽후박나무 추출물에 의해 주름이 개선되는 양상이 어떻게 다른지 비교해 보았다. 그 결과 Table 2에서 볼 수 있듯이 모든 그룹에서 유사한 수준의 개선율을 보였으며 특히 mild 정도의 입술 주름을 가진 그

레이드 2 그룹에서 피험자 개선효과가 가장 크게 나타났다. 그러나 모든 그룹에서 참여 인원이 많지 않아서 유의미한 수준의 차이는 아니었기 때문에 향후 더 많은 인원을 대상으로 실험을 진행하는 것이 바람직하다고 생각된다.

3.4. 요엽후박나무 추출물의 입술 보습 개선 효과

피부 보습력의 감소는 노화로 인한 주름형성의 간접적인 요인이 된다는 사실이 잘 알려져 있다[36]. Ezure 등은 지방줄기세포가 분화하는 과정에서 생성되는 아디포카인에 의해 히알루론산 합성이 촉진된다는 사실을 보고하였으며[37], 히알루론산은 물과의 결합력이 매우 우수한 세포 외 기질이므로 우리는 요엽후박나무 추출물이 입술 보습에도 영향을 주는지 확인하였다. 입술 보습 외에 밝기 및 색에도 영향을 미칠 가능성이 있으므로 입술 보습을 측정하고 색차계를 이용하여 입술 밝기 및 입술 색을 측정하였다. 요엽후박나무 추출물 1%가 적용된 제품을 2주간도 포함했고, 그 결과 Figure 4A에서 보는 것과 같이 입술 보습이 0주차와 비교하여 약 35.8% 개선되었으며, 육안으로도 확인한 각질 개선 효과를 확인할 수 있었다(Figure 4B). 이는 제품 사용 전과 비교했을 때 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다(Figure 4A, $** p < 0.05$). 그 외 입술 밝기 및 입술색은 요엽후박나무 추출물과 큰 연관이 없었다(data not shown). Figure 3과 Figure 4의 결과를 비교해 보면, 피부 보습력 개선 효과는 주름 개선이 확인된 시간보다 확연히 짧은 것을 알 수 있으며(2주 vs. 8주) 보습력이 증가한 피험자의 경우 주름도 개선되는 경향을 보였다(data not shown). 표피 수분량 증가는 피부의 유동성을 증가시켜 주

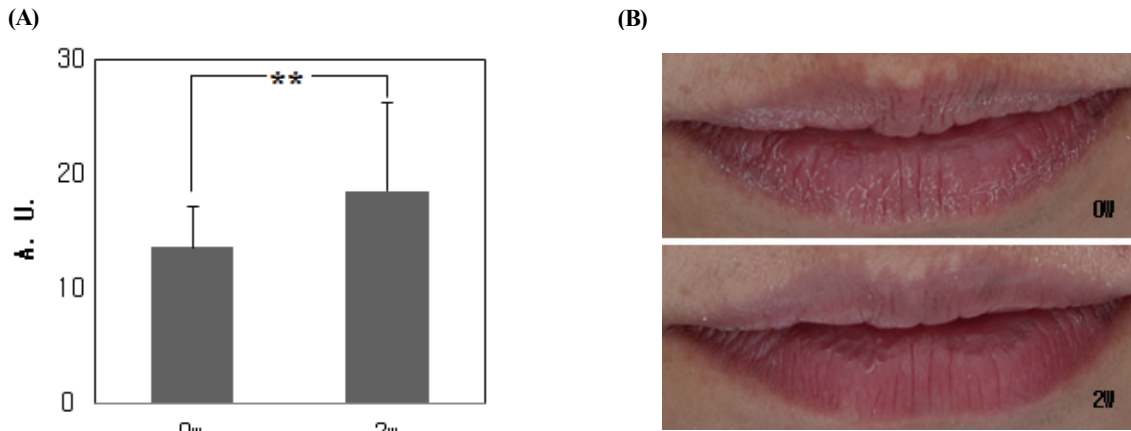


Figure 4. The change of hydration after topical application of the lipstick containing MO. (A) The change of lip hydration after treatment of lipstick during 2 weeks (n = 12, ** p < 0.05). (B) A photograph by the Janus.

름 개선과 양의 상관관계를 가진다는 기존 보고를 토대로 후박추출물에 의한 보습력의 증가는 주름 개선에 긍정적 영향을 주었을 것으로 유추할 수 있으며[36], 입술 보습력 증가와 주름 개선 간의 직접적인 연관성에 대해서는 추가 연구가 필요할 것으로 생각된다.

4. 결 론

입술은 매력을 나타낼 수 있는 대표적인 피부 부위로서 주름 등의 노화 징후 없이 매끈하고 볼륨있는 입술을 유지하고자 하는 소비자의 니즈가 증가되고 있다. 이에 따라 입술의 진피 혹은 지방층을 타겟으로 한 입술 볼륨 및 주름 개선에 대한 다양한 연구가 보고되고 있으며, 이러한 연구 결과를 반영한 의료적 기술이 개발되거나 다양한 입술 케어 제품도 출시되고 있다. 우리는 본 연구에서 지방줄기세포의 지방세포로 분화를 촉진하는 요엽후박나무 추출물이 입술 주름 개선에 미치는 효능을 확인하였다. 요엽후박나무 추출물은 3D 배양 시스템에서 지방줄기세포를 지방세포로 분화를 유도하였고, 인체 적용 시험에서도 입술 주름과 보습 개선 효능을 나타내었다. 결론적으로, 피부의 지방층 변화를 유도할 수 있는 요엽후박나무 추출물은 입술에 발생하는 다양한 노화 징후를 해결해줄 수 있는 항노화 소재로서, 입술의 볼륨, 주름 및 보습 개선을 위한 후보 소재로서의 가능성을 확인하였다는 측면에서 본 연구의 의의가 있다.

Reference

1. E. Tamura, J. Ishikawa, K. Sugata, K. Tsukahara, H. Yasumori and T. Yamamoto, Age-related differences in the functional properties of lips compared with skin, *Skin Res Technol*, **24**(3), 472 (2018).
2. Z. Ya-Xian, T. Suetake and H. Tagami, Number of cell layers of the stratum corneum in normal skin-relationship to the anatomical location on the body, age, sex and physical parameters, *Arch. Dermatol. Res.*, **291**(10), 555 (1999).
3. M. L. Fogel and M. F. Stranc, Lip function: a study of normal lip parameters, *Br J Plast Surg*, **37**(4), 542 (1984).
4. J. L. Leveque and E. Goubanova, Influence of age on the lips and perioral skin, *Dermatology*, **208**(4), 307 (2004).
5. V. Penna, G. B. Stark, S. U. Eisenhardt, H. Bannasch and N. Iblher, The aging lip: a comparative histological analysis of age-related changes in the upper lip complex, *Plast. Reconstr. Surg.*, **124**(2), 624 (2009).
6. H. Kobayashi and H. Tagami, Distinct locational differences observable in biophysical functions of the facial skin: with special emphasis on the poor functional properties of the stratum corneum of the perioral region, *Int J Cosmet Sci*, **26**(2), 91 (2004).

7. D. Gibelli, M. Codari, R. Rosati, C. Dolci, G.M. Tartaglia, C. Cattaneo and C. Sforza, A quantitative analysis of lip aesthetics: the influence of gender and aging, *Aesthetic Plast Surg*, **39**(5), 771 (2015).
8. D. S. Sarnoff, R. Saini and R. H. Gotkin, Comparison of filling agents for lip augmentation, *Aesthet Surg J*, **28**(5), 556 (2008).
9. N. S. Trookman, R. L. Rizer, R. Ford, R. Mehta and V. Gotz, Clinical assessment of a combination lip treatment to restore moisturization and fullness, *J Clin Aesthet Dermatol*, **2**(12), 44 (2009).
10. J. S. Ryu, S. G. Park, T. J. Kwak, M. Y. Chang, M. E. Park, K. H. Choi, K. H. Sung, H. J. Shin, C. K. Lee, Y. S. Kang, M. S. Yoon, M. J. Rang and S. J. Kim, Improving lip wrinkles: lipstick-related image analysis, *Skin Res Technol*, **11**(3), 157 (2005).
11. J. E. Fulton, Jr., A. D. Rahimi, P. Helton, T. Watson and K. Dahlberg, Lip rejuvenation, *Dermatol Surg*, **26**(5), 470 (2000).
12. G. D. Monheit and K. M. Coleman, Hyaluronic acid fillers, *Dermatol Ther*, **19**(3), 141 (2006).
13. P. Lafaille and A. Benedetto, Fillers: contraindications, side effects and precautions, *J Cutan Aesthet Surg*, **3**(1), 16 (2010).
14. M. Hayman and P. C. A. Kam, Capsaicin: a review of its pharmacology and clinical applications, *Curr. Anaesth. Crit. Care*, **19**, 338 (2008).
15. I. L. Kruglikov and P. E. Scherer, Skin aging: are adipocytes the next target, *Aging (Albany NY)*, **8**(7), 1457 (2016).
16. A. W. Klein, In search of the perfect lip: 2005, *Dermatol Surg*, **31**(11 pt 2), 1599 (2005).
17. S. Isik and I. Sahin, Contour restoration of the forehead by lipofilling: our experience, *Aesthetic Plast Surg*, **36**(4), 761 (2012).
18. F. Trepsat, Volumetric face lifting, *Plast. Reconstr. Surg.*, **108**(5), 1358 (2001).
19. G. Caso, M. A. McNurlan, I. Mileva, A. Zemlyak, D. C. Mynarcik and M. C. Gelato, Peripheral fat loss and decline in adipogenesis in older humans, *Metab. Clin, Exp.*, **62**(3), 337 (2013).
20. M. Gierloff, C. Stohring, T. Buder, V. Gassling, Y. Acil and J. Wiltfang, Aging changes of the midfacial fat compartments: a computed tomographic study, *Plast. Reconstr. Surg.*, **129**(1), 263 (2012).
21. M. Maredziak, K. Marycz, K. A. Tomaszewski, K. Kornicka and B. M. Henry, The influence of aging on the regenerative potential of human adipose derived mesenchymal stem cells, *Stem Cells Int.*, 2152435 (2016).
22. Y. C. Lo, C. M. Teng, C. F. Chen, C. C. Chen and C. Y. Hong, Magnolol and honokiol isolated from *Magnolia officinalis* protect rat heart mitochondria against lipid peroxidation, *Biochem. Pharmacol.*, **47**(3), 549 (1994).
23. J. P. Wang, T. F. Ho, L. C. Chang and C. C. Chen, Anti-inflammatory effect of magnolol, isolated from *Magnolia officinalis*, on A23187-induced pleurisy in mice, *J. Pharm. Pharmacol.*, **47**(10), 857 (1995).
24. Y. J. Lee, Y. M. Lee, C. K. Lee, J. K. Jung, S. B. Han and J. T. Hong, Therapeutic applications of compounds in the *Magnolia* family, *Pharmacol. Ther.*, **130**(2), 157 (2011).
25. Y. C. Lu, H. H. Chen, C. H. Ko, Y. R. Lin and M. H. Chan, The mechanism of honokiol-induced and magnolol-induced inhibition on muscle contraction and Ca²⁺ mobilization in rat uterus, *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, **368**(4), 262 (2003).
26. K. Tanaka, J. Hasegawa, K. Asamitsu and T. Okamoto, *Magnolia ovovata* extract and its active component magnolol prevent skin photoaging via inhibition of nuclear factor κ B (kappaB), *Eur. J. Pharmacol.*, **565**(1-3), 212 (2007).
27. J. L. Shen, K. M. Man, P. H. Huang, W. C. Chen, D. C. Chen, Y. W. Cheng, P. L. Liu, M. C. Chou and Y. H. Chen, Honokiol and magnolol as multifunctional antioxidative molecules for dermatologic disorders, *Molecules*, **15**(9), 6452 (2010).
28. S. S. Chan, M. Zhao, L. Lao, H. H. Fong and C. T. Che, Magnolol and honokiol account for the anti-spasmodic effect of *Magnolia officinalis* in isolated guinea pig ileum, *Planta Med.*, **74**(4), 381

- (2008).
29. K. Ikeda, Y. Sakai and H. Nagase, Inhibitory effect of magnolol on tumour metastasis in mice, *Phytother Res*, **17**(8), 933 (2003).
 30. J. Lee, E. Jung, J. Park, K. Jung, S. Lee, S. Hong, J. Park, E. Park, J. Kim, S. Park and D. Park, Anti-inflammatory effects of magnolol and honokiol are mediated through inhibition of the downstream pathway of MEKK-1 in NF-kappaB activation signaling, *Planta Med.*, **71**(4), 338 (2005).
 31. S. S. Choi, B. Y. Cha, Y. S. Lee, T. Yonezawa, T. Teruya, K. Nagai and J. T. Woo, Magnolol enhances adipocyte differentiation and glucose uptake in 3T3-L1 cells, *Life Sci.*, **84**(25-26), 908 (2009).
 32. WO, PCT-KR2016-008020 (2016).
 33. R. Y. Ha, K. Hojima, W. P. Adams and S. A. Brown, Analysis of facial skin thickness: defining the relative thickness index, *Plast. Reconstr. Surg.*, **115**(6), 1769 (2005).
 34. M. A. Hamer, L. C. Jacobs, J. S. Lall, A. Wollstein, L. M. Hollestein, A. R. Rae, K. W. Gossage, A. Hofman, F. Liu, M. Kayser, T. Nijsten and D. A. Gunn, Validation of image analysis techniques to measure skin aging features from facial photographs, *Skin Res Technol*, **21**(4), 392 (2015).
 35. G. O. Cula, P. R. Bargo, A. Nkengne and N. Kollias, Assessing facial wrinkles: automatic detection and quantification, *Skin Res Technol*, **19**(1), e243 (2013).
 36. J. W. Choi, S. H. Kwon, C. H. Huh, K. C. Park and S. W. Youn, The influences of skin visco-elasticity, hydration level and aging on the formation of wrinkles: a comprehensive and objective approach, *Skin Res Technol*, **19**(1), e349 (2013).
 37. T. Ezure and S. Amano, Adiponectin and leptin up-regulate extracellular matrix production by dermal fibroblasts, *Biofactors*, **31**(3-4), 229 (2007).