

백작약 열수추출물의 피부노화 억제 효과 (I)
-염증 및 피부장벽 손상 완화 효과를 중심으로 -

권 미 화, 민 경 진¹, 김 영 철^{1,*}

국립독성과학원 독성병리과, ¹계명대학교 대학원 공중보건학과

Inhibitory Effects of *Peonia japonica* Water Extract
on Skin Aging (I)
- Focussed on Alleviative Effects of Inflammation and
Skin Barrier Damage -

Mi-Hwa Kwon, Kyung-Jin Min¹ and Young-Chul Kim^{1,*}

Department of Toxicopathology, National Institute of Toxicological Research

¹Department of Public Health, Keimyung University

ABSTRACT

To investigate the alleviative effects of *Peonia japonica* water extract (PJWE) on inflammation and skin barrier damage, both the irradiation of UVB and the application of squalene monohydroperoxide (Sq-OOH) to the backs of hairless mice were performed for 4 weeks. And at the same time experimental materials were applied topically. The skin erythema indices for the positive control (PC, 0.01% retinoic acid) and experimental (E, PJWE) groups were lower than that of the control (C) group. Whereas both the lipid and water capacities for the PC and E groups were higher than those of the C group. Epidermis and dermis of the C group were remarkably thickened in comparison with the PC and E groups. Relatively much less number of inflammatory cells, including lymphocytes, neutrophils and macrophages were found in dermis of the PC and E groups compared with the C group. Lipid lamellae of the C group were broken severely showing an irregular arrangement and lipid content was much reduced. Whereas those of the PC and E groups were almost intact with a regular arrangement, which were similar to that of the N group. Taken the results all together, it was confirmed that PJWE could be effective natural herbal material for the alleviation of inflammation and skin barrier damage in hairless mice skin which were induced by UVB and Sq-OOH.

Key words : *Peonia japonica*, hairless mice, inflammation, skin barrier damage

* To whom correspondence should be addressed.
Tel: +82-53-580-5931, Fax: +82-53-588-5233
E-mail: yckim@kmu.ac.kr

서 론

최근 들어 오존층의 파괴로 인한 환경변화에 의해서 지표면에 도달하는 자외선이 증가함에 따라 자외선이 건강에 미치는 영향에 대한 관심이 커지고 있다. 신체의 최외각층을 형성하고 있는 피부는 자외선과 유해물질 등의 외부환경으로부터 내부기관을 보호하고 수분과 전해질의 손실을 막는 장벽기능을 하는 기관으로서 외부환경에 항상 노출되어 있어 손상을 받기 쉽고, 그 중 자외선은 피부에 부정적인 영향을 주는 환경적 인자이다.

자외선은 파장이 짧을수록 광 에너지의 양은 증가하고, 이 중 UVB는 진피의 상부층까지 도달해 화상이나 홍반과 같은 염증을 일으키며 더 진행되면 멜라닌 색소 형성과 함께 색소침착을 일으킨다. 특히 과량의 UVB는 활성산소종을 다량으로 생성해 진피결합조직의 손상과 함께 피부장벽을 붕괴시켜 유분 및 수분감소와 피부노화를 일으킨다(Chiba *et al.*, 2003). Squalene monohydroperoxide (Sq-OOH)는 과산화 된 squalene의 초기 생성물로 일상생활에서 햇빛에 노출됨으로써 사람의 피부에서 생성된다(Chiba *et al.*, 2003). Sq-OOH 도포는 UVB로 인해 야기된 주름보다 깊고 거친 주름을 형성하며, 피부가 거칠어지고, 각질층의 수분손실, 진피층 내 교원섬유 양을 감소시킨다(Chiba *et al.*, 1999). 이에 Sq-OOH의 반복적인 도포는 주름을 형성시키고 산화적 스트레스와 관련된 피부노화를 연구하기 위한 방법으로 사용되고 있다.

비타민 A류는 retinoid라 불리며 retinol, retinoic acid, retinal 등을 포함한다. Retinoid는 세포분화를 촉진하고 생체에 필요한 각종 단백질의 생합성 등의 기능으로 주름개선에 효과가 있는 것으로 보고되고 있다(Kligman and Kligman, 1986). Retinol은 생체 내에서 레티노인산(retinoic acid)으로 변환되고, retinoic acid는 세포내 활성산소를 제거하여 세포의 증식을 억제하는 작용을 한다(Weiss *et al.*, 1988). 또한 표피의 각질세포를 자극하여 손상된 피부를 복원하고, 진피층 내 교원섬유의 증식을 촉진하며, collagenase를 억제하는 작용이 있다(Weiss *et al.*, 1988). 그러나 retinoid를 국소 도포제로 사용하는 많은 환자들은 레티노이드 피부염(retinoid dermatitis)이라고 불리는 일종의 자극성 접촉피부염

을 경험하게 되는데 증상은 홍반, 건조, 작열감, 소양감 등을 나타내며 환자들 중 다수가 이러한 부작용으로 치료를 중단하게 된다(Fisher *et al.*, 1991; 강병철 등, 2002).

이에 따라 최근에는 삶의 질 향상과 웰빙생활의 보편화에 힘입어 부작용이 적은 천연물질에 대한 관심이 증가하고 있으며 천연물질을 재료로 한 천연 한방화장품이 소비자의 호응을 얻고 있다(김경동, 2004). 따라서 국내 한방화장품 산업에서 천연물질의 사용은 기존 문헌에 의한 화장품 원료의 적용보다는 보다 과학적이고 객관적으로 효능이 확인된 원료의 적용을 요구하고 있다(김주덕과 엄정녀, 2004).

백작약(*Peonia japonica*)은 수 천 년 전부터 동양에서 보혈에 사용되어 온 약재로서 미나리아재비과(Ranunculaceae)에 속한다(Park *et al.*, 2003). 중국 북부가 원산지인 작약은 약용 식물로 표고가 높은 산간지방에서 야생하는 것을 종종 볼 수 있으나 요즘은 대량 재배하고 있으며 함박꽃이라고도 부른다. 길이가 20 cm 정도이고 굵기가 1~2 cm에 달하며, 외면은 껍질을 벗기면 담홍색을 띠고, 절단면은 담홍색이 도는 흰색을 나타내며 분질(粉質)이다. 4, 5월경 가지 끝에 백색과 홍색의 크고 탐스러운 꽃이 한송이씩 화사하게 피며 홍색 꽃이 피는 것을 적작약, 백색 꽃이 피는 것을 백작약이라고 한다. 성질은 찬기운이 약하게 있고 독이 없으며, 맛은 약간 매운맛이 도는 신맛이다. 백작약의 주요성분으로서 paeniflorin이 1960년대에 분리 되었으며 항산화 효과가 있는 것으로 밝혀졌다(Aimi *et al.*, 1969). 백작약의 주요 효과로는 항염증, 항스트레스 및 항경련 효과들이 보고되었다(Park *et al.*, 2003). 그러나 현재까지 광노화로 인한 염증 및 피부 장벽 손상에 대한 백작약추출물의 유효성을 연구 보고한 자료를 확인할 수 없었다.

Hairless 마우스는 실험실 환경에 적응이 쉬우며, 모발이 없어 처치가 간편하고(최현주 등, 1995) 자외선에 대한 피부반응이 인체에서 나타나는 반응과 유사하게 나타나 자외선에 의한 피부암 유발 실험과 광노화 피부를 연구하는 실험동물로 널리 사용되고 있다(Kligman *et al.*, 1993). 이에 본 연구는 hairless 마우스 피부에 UVB를 반복적으로 조사하고 Sq-OOH를 반복 도포하여 염증유발 및 피부장벽을 손상시키고, 이와 병행하여 백작약 열수추출

물을 도포하여 염증 및 피부장벽 손상 완화효과를 확인함으로써 기능성 화장품 원료로서의 사용가능성을 알아보았다.

재료 및 방법

1. 시약 및 기기

Hydrogen peroxide는 Junsei 사(Japan)의 제품을, hematoxylin, bovine serum albumin, retinoic acid, polyethylene glycol은 Sigma 사(USA)의 제품을, squalene은 Acros 사(USA)의 제품을 사용하였으며 그 외 일반시약들은 특급품을, 조조바 오일(jojoba oil)은 Desert Whale 사(USA)의 제품을 사용하였다.

실험기기 중 자외선 조사장치는 UVB sunlamp (UVM-225D, Mineralight Lamp UVP, USA)를, 자외선 측정장치는 UV-radiometer (HD 9021, Delta OHM, Italy)를 사용하였고 홍반도 및 유분함량, 수분함량 측정은 각각 mexameter (MX18, CK electronic GmbH, Germany), sebumeter (SM815, CK electronic GmbH, Germany), corneometer (CM825, CK electronic GmbH, Germany)를 이용하였다. 시료추출은 초고속 감압 저온 추출기(COSMOS-660, 경서 기계 산업, 한국)를 사용하였다. 조직표본관찰은 light microscope (CX41, Olympus, Japan)를 사용하였다.

2. 시료 조제

경북 의성에서 채배한 유기농 백작약 600g을 구입하여 물 6L를 가하여 초고속 감압 저온 추출기로 열수 추출한 다음 진공 농축 용기에 담아 2L로 농축하고 파우치 진공 포장 후 냉장 보관하여 실험에 사용하였다. 동결건조로 측정된 백작약 열수추출물의 수율(yield)은 5.4%였다. 백작약 열수추출물 10 mL+jojoba oil 1 mL+100% 에탄올 2.5 mL+물 6.5 mL 비율로 혼합하여 백작약 열수추출물 시료로 사용하였다.

3. 실험동물 및 처치

실험동물은 6주령의 SKH-1 hairless mouse (Char-

les-River, Japan)를 분양받아 1주일간 사육실에서 적응시킨 후 실험 전 기간 동안 사료와 물은 자유롭게 공급하였다. 사육실은 온도 $22\pm 1^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $50\pm 5\%$, 조명주기 12시간씩 명암을 유지하였다.

실험동물은 실험 4주째 되는 날 에테르로 마취한 후 피부는 적출한 후 10% 중성 포르말린 용액에 고정하여 조직학적 검사에 사용하였다. 적출한 흉선과 비장은 생리식염수로 씻어내고 여과지로 수분을 제거한 후 전자저울로 무게를 측정하였다. 실험군은 정상군(normal group, N): 아무런 처치를 하지 않은 군, 대조군(control group, C): 자외선 조사+Sq-OOH 도포+saline 도포군, 용매대조군(vehicle control group, VC): 자외선 조사+Sq-OOH 도포+용매(100% 에탄올+jojoba oil+물) 도포군, 양성대조군(positive control group, PC): 자외선 조사+Sq-OOH 도포+0.01% retinoic acid 도포군, 실험군(experimental group, E): 자외선 조사+Sq-OOH 도포+백작약 열수추출물 도포군, 총 5개군으로 나누어 실험하였다.

4. 피부장벽 손상 유발 및 시료도포

자외선 조사장치의 광원은 302 nm의 UVB를 방출하는 sunlamp를 사용하였다. 자외선 조사량은 UV-radiometer로 측정하였으며, 마우스를 자외선 조사용 cage에 가둔 후 등 부위에 균등하게 120 mJ/cm²의 광량으로 격일 간격으로 1주일에 3회, 4주 동안 조사하였다. 피부손상을 촉진하기 위하여 Sq-OOH를 1일 2회, 주 6일, 4주 동안 매회 100 µL씩 도포하였다. 광노화 유발과 병행하여 백작약 열수추출물(0.130 g/kg BW/day), 용매, saline은 1일 2회, 주 6일, 4주 동안 매회 200 µL씩 도포하였다. Retinoic acid는 polyethylene glycol에 0.01%로 희석하여 1일 2회, 주 6일, 4주 동안 매회 200 µL씩 도포하였다.

5. 피부 홍반도, 유분함량 및 수분함량 측정

홍반도는 mexameter (MX18)를, 유분함량은 sebumeter (SM815)를, 수분함량은 corneometer (CM825)를 사용하여 비침습적 방법으로 실험기간 동안 주 1회 측정하였다.

6. 피부의 조직학적 관찰

1) H & E 염색 관찰

절취한 피부조직을 실온에서 10% 중성 포르말린 용액에 24시간 고정한 후 통상적인 방법으로 수세, 탈수, 투명, 칩투과정을 거친 다음 파라핀에 포매하고 4 μ m 두께로 절편을 만들어 hematoxylin and eosin (H & E)으로 염색 후 광학현미경으로 피부조직의 변화양상을 관찰하였다.

2) Toluidine blue 염색 관찰

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

3) Oil red O 염색 관찰

절취한 피부조직을 실온에서 10% 중성 포르말린 용액에 24시간 고정한 후 10% formal-calcium에 1주일 동안 oxidation 처리한 다음 30% sucrose 용액에 cryo-protection한 후 냉동 절편기로 10 μ m 두께의 냉동절편을 제작하여 Oil red O 염색 후 표피 각질층 내 지방과 lipid lamella 분포양상을 광학현미경으로 관찰하였다.

7. 장기무게 측정

실험동물을 에테르로 마취한 후 개복하여 면역

학적 안전성을 확인하기 위하여 비장, 흉선을 적출한 다음 생리 식염수로 씻어내고 수분을 여과지로 제거한 다음 전자저울을 이용하여 측정하였다.

8. 자료 분석

통계적 분석은 SPSS WIN (v14.0)를 이용하여 정상군, 대조군, 용매대조군, 양성대조군, 백작약 열수추출물 도포군 간의 차이를 비교하기 위하여 일원 배치분산분석 (one-way ANOVA)으로 검증하였다. 각 그룹 간의 차이를 검증하기 위하여 Duncan's multiple range test를 이용하여 사후분석을 실시하였고 p값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

결과 및 고찰

1. 피부 홍반도 변동

UVB 조사로 인한 염증반응 현상의 하나로 혈관 확장으로 인한 피부홍반을 들 수 있다 (Pathak, 1972). 홍반도의 변동을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 대조군은 정상군보다 홍반도가 실험 전 기간 동안 유의하게 높았으며 용매대조군, 양성대조군 및 백작약 열수추출물 도포군은 대조군에 비해 낮은 경향을 보였다. 실험 28일에 양성대조군과 백작약 열수추출물 도포군은 대조군에 비해 각각 4.8%, 9.3% ($p < 0.05$) 낮았다. 이를 통해 대조군에 비해 백작약 열수추출물 도포군이 염증정도가 상

Table 1. Changes in skin erythema index of SKH-1 hairless mice

Days	Normal	Control			Experimental
	N	C	VC	PC	E
2	249.92 \pm 20.76 ^a	282.75 \pm 16.31 ^b	269.00 \pm 7.64 ^{ab}	271.50 \pm 10.40 ^{ab}	273.63 \pm 15.39 ^{ab}
6	250.33 \pm 24.78 ^a	519.08 \pm 16.15 ^b	493.67 \pm 30.82 ^b	493.08 \pm 41.75 ^b	484.25 \pm 48.77 ^b
12	279.58 \pm 32.39 ^a	360.67 \pm 21.32 ^b	332.08 \pm 32.72 ^{ab}	321.58 \pm 32.03 ^{ab}	305.75 \pm 45.62 ^a
22	303.17 \pm 15.78 ^a	381.13 \pm 37.56 ^b	357.17 \pm 68.40 ^{ab}	343.50 \pm 28.88 ^{ab}	334.08 \pm 26.33 ^{ab}
28	303.17 \pm 18.83 ^a	352.17 \pm 11.91 ^b	321.38 \pm 31.15 ^{ab}	335.33 \pm 14.67 ^{ab}	319.25 \pm 18.28 ^a

Values are means \pm SD of 5 mice

Unit: AU (Arbitrary unit)

N: No treatment group

C: UVB irradiation+Squalene-OOH+Saline application group

VC: UVB irradiation+Squalene-OOH+Jojoba oil+100% ethanol+Water application group

PC: UVB irradiation+Squalene-OOH+Retinoic acid application group

E: UVB irradiation+Squalene-OOH+*Peonia japonica* water extract application group

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

Table 2. Changes in skin lipid capacity of SKH-1 hairless mice

Days	Normal		Control		Experimental
	N	C	VC	PC	
2	11.75 ± 0.96 ^a	7.75 ± 4.50 ^a	11.50 ± 4.04 ^a	15.00 ± 3.56 ^a	19.75 ± 18.04 ^a
6	6.75 ± 4.92 ^a	2.00 ± 2.16 ^a	2.00 ± 1.63 ^a	3.50 ± 1.00 ^a	3.25 ± 3.30 ^a
12	6.25 ± 3.95 ^b	2.50 ± 1.00 ^a	3.50 ± 1.29 ^{ab}	3.25 ± 1.50 ^{ab}	3.00 ± 1.41 ^{ab}
22	6.50 ± 2.38 ^b	2.25 ± 1.89 ^a	2.25 ± 1.71 ^a	3.00 ± 0.82 ^a	3.75 ± 2.22 ^{ab}
28	5.50 ± 1.29 ^b	1.50 ± 1.00 ^a	1.75 ± 0.96 ^a	3.00 ± 1.41 ^a	2.75 ± 0.50 ^a

Values are means ± SD of 5 mice

Unit: $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

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

Table 3. Changes in skin water capacity of SKH-1 hairless mice

Days	Normal		Control		Experimental
	N	C	VC	PC	
2	53.98 ± 4.49 ^b	40.89 ± 9.11 ^a	39.60 ± 6.30 ^a	50.69 ± 5.25 ^b	59.29 ± 5.83 ^b
6	51.98 ± 3.40 ^b	26.32 ± 3.88 ^a	27.62 ± 6.77 ^a	30.78 ± 2.25 ^a	33.24 ± 3.64 ^a
12	47.04 ± 3.98 ^c	20.13 ± 2.89 ^a	24.97 ± 4.14 ^a	25.13 ± 3.47 ^a	31.14 ± 3.35 ^b
22	52.79 ± 2.19 ^b	18.91 ± 5.08 ^a	18.95 ± 6.22 ^a	21.55 ± 5.63 ^a	25.16 ± 3.27 ^a
28	54.07 ± 6.78 ^b	28.55 ± 3.14 ^a	29.13 ± 5.38 ^a	32.13 ± 3.26 ^a	34.00 ± 5.96 ^a

Values are means ± SD of 5 mice

Unit: AU (Arbitrary unit)

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

대적으로 낮음을 유추할 수 있었다.

2. 피부 유분함량 변동

과량의 UVB 피부노출과 Sq-OOH 도포는 superoxide anion radical ($\text{O}_2^- \cdot$)과 singlet oxygen ($^1\text{O}_2$)과 같은 활성산소를 생성하여 진피결합조직의 손상과 함께 피부장벽의 붕괴로 유분 및 수분함량 감소를 초래한다(Chiba *et al.*, 2003). 유분함량의 변동을 측정된 결과는 Table 2와 같다. 용매대조군, 양성대조군 및 백작약 열수추출물 도포군은 대조군에 비해 시간이 경과함에 따라 높았다. 실험 28일에 대조군, 용매대조군, 양성대조군, 백작약 열수추출물 도포군 모두 정상군에 비해 유의하게 낮았으며 대조군과 비교할 때 용매대조군, 양성대조군, 백작약 열수추출물 도포군은 각각 약 16.6%, 100%, 83% 높았다. 이와 같은 결과를 통해 대조군에 비해 백작약 열수추출물 도포군이 피부 장벽 손상 정도가 상대적으로 적음을 유추할 수 있었다.

3. 피부 수분함량 변동

수분함량의 변동을 측정된 결과는 Table 3과 같다. 실험 전 기간 동안 백작약 열수추출물 도포군은 정상군을 제외한 나머지 군에 비해 수분함량이 높았다. 실험 28일에 대조군, 용매대조군, 양성대조군, 백작약 열수추출물 도포군 모두 정상군에 비해 유의하게 낮았으며 대조군과 비교할 때 용매대조군, 양성대조군, 백작약 열수추출물 도포군은 각각 약 2.0%, 12.5%, 19.1% 높았다. 이와 같은 결과를 통해 대조군에 비해 백작약 열수추출물 도포군이 피부 장벽 손상 정도가 상대적으로 적음을 유추할 수 있었다.

4. 피부의 조직학적 변화

1) H&E 염색 관찰

자외선에 노출되면 피부의 초기반응으로 염증이 생기는데, 생체 내 면역 방어계 역할을 하는 호중구가 염증부위에 제일 먼저 이주하고 염증성 세포

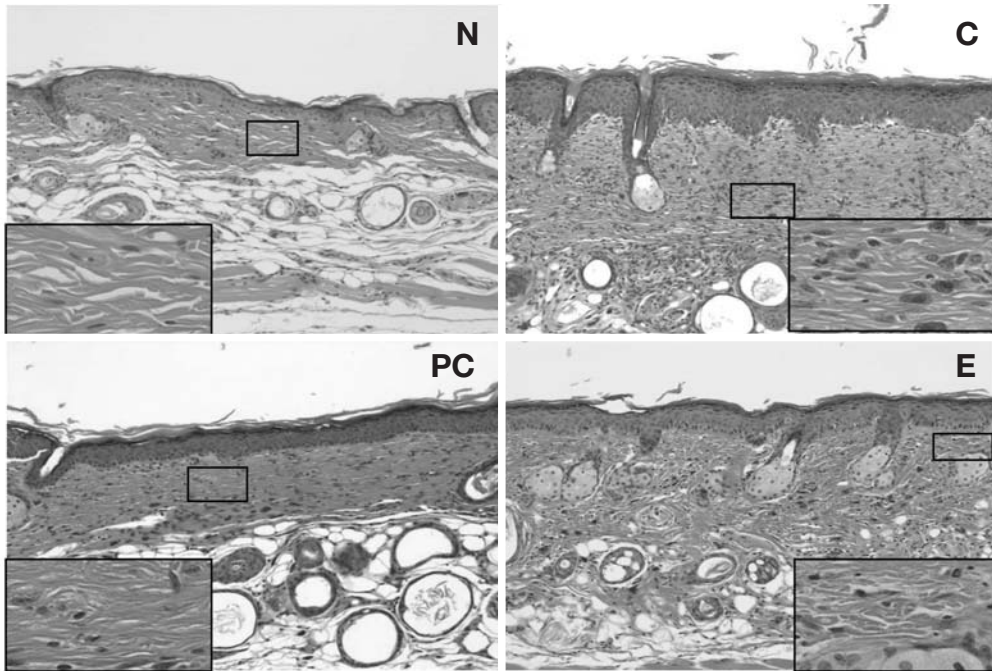


Fig. 1. Histological observation on SKH-1 hairless mice skin after 4-week experiment. H & E stain, $\times 100$ & $\times 400$. Squared portion in the lower corner of each picture represents the magnification ($\times 400$) of designated small squared portion ($\times 100$) in the picture.

의 침윤이 일어난다. 또한 자외선에 만성적으로 노출되면 표피의 과립층과 각질층을 증가시켜 표피층의 비후가 발생한다(Kligman *et al.*, 1993). Chiba 등 (2003)은 Sq-OOH를 반복적으로 도포한 hairless 마우스에서 과각화증, 표피비후와 함께 피지선의 증식이 관찰됨을 보고하였다. 피부조직 형태 및 염증관련 세포를 관찰한 결과는 Fig. 1과 같다. 정상군은 표피와 진피층 배열이 규칙적이며 염증관련 세포들이 거의 보이지 않은 반면, 대조군은 진피내 림프구, 대식구 및 호중구가 상당수 관찰되었고, 표피층의 비후와 피지선의 증식이 관찰되었다. 이에 비해 양성대조군과 백작약 열수추출물 도포군은 림프구, 대식구 및 호중구와 같은 염증관련 세포들이 대조군에 비해 많이 줄어들어 있음을 확인하였다.

2) Toluidine blue 염색 관찰

자외선에 노출되면 피부의 초기반응으로 염증이 생기는데 이로 인해 진피층과 피하층 내 mast cell이 증가하고 염증이 심한 경우 mast cell의 탈과립

과 함께 히스타민이 방출되어 소양증을 동반한다(Chiba *et al.*, 2003). 진피 및 피하층 내 mast cell의 분포양상과 탈과립 정도를 관찰한 결과는 Fig. 2와 같다. 정상군은 mast cell이 적게 관찰되었고 탈과립이 거의 없는 반면, 대조군은 mast cell이 현저히 많이 관찰되었고 탈과립 정도가 심하게 나타났다. 양성대조군과 백작약 열수추출물 도포군은 대조군에 비해 mast cell 수가 적게 관찰되었고 탈과립 정도도 경미하게 나타났다.

3) Oil red O 염색 관찰

피부 각질층은 각질세포와 lamella body에서 분비한 지질로 형성된 lipid lamella로 구성되어 있으며 전해질과 수분손실을 억제하고 외부의 물리적 손상과 자극성 물질로부터 생체를 보호하는 피부 장벽의 중요한 기능을 담당한다. 표피 각질층 내 lipid lamella의 형태 및 지방량을 관찰한 결과는 Fig. 3과 같다. 정상군은 lipid lamella가 규칙적이며 지방량이 많은 반면, 대조군은 lipid lamella가 많이 부서져 형태가 불규칙적이고 지방량이 적었다. 양

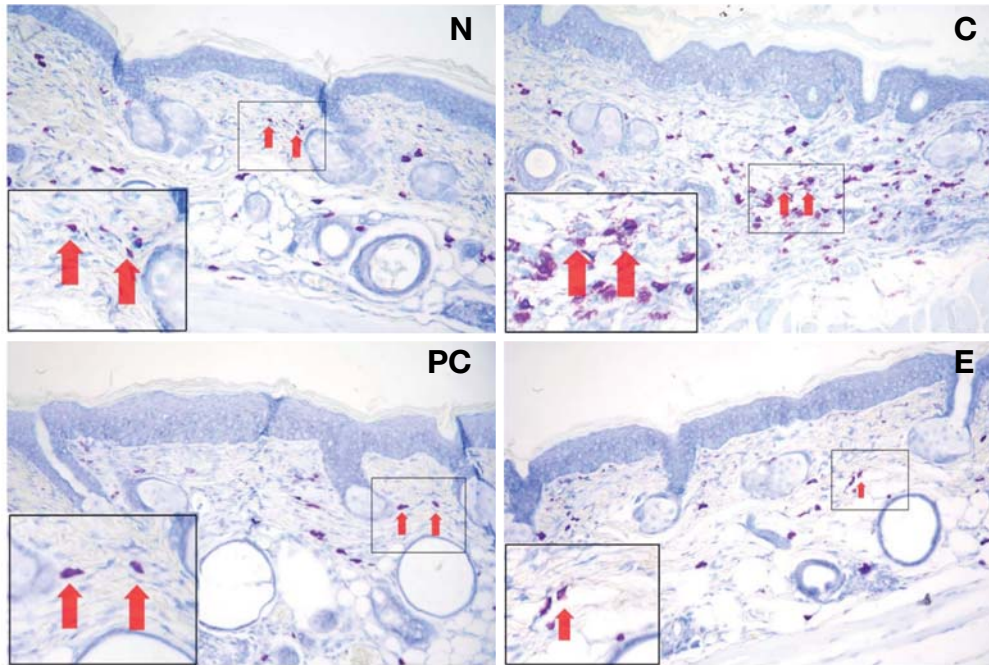


Fig. 2. Histological observation on SKH-1 hairless mice skin after 4-week experiment. Toluidine blue stain, $\times 200$ & $\times 400$. Relatively much less number of mast cells (arrows) were found in the experimental group and the degree of degranulation was slighter compared to the control group.

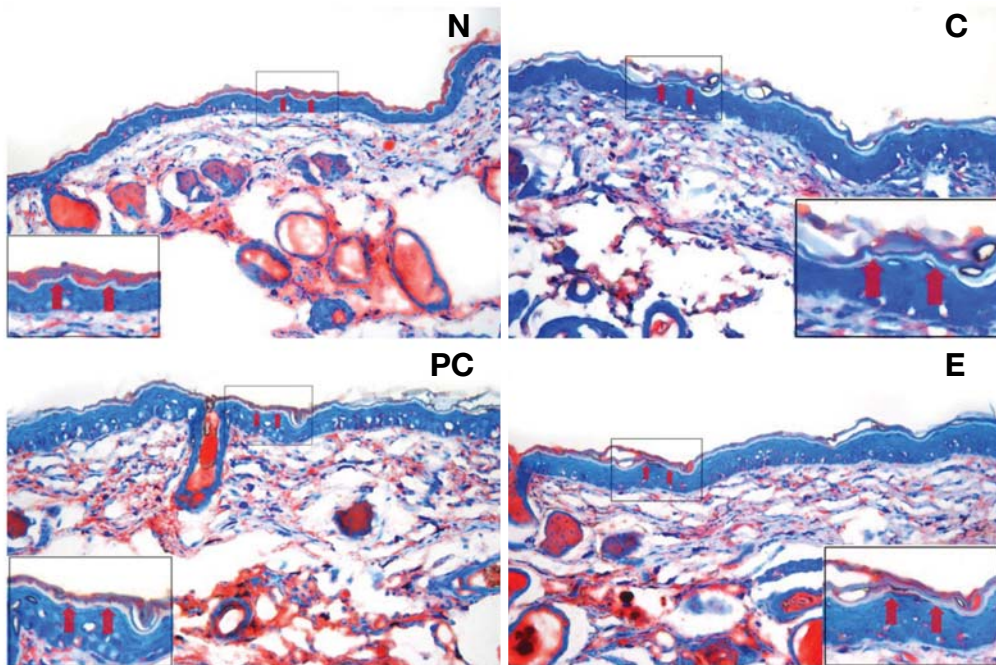


Fig. 3. Histological observation on SKH-1 hairless mice skin after 4-week experiment. Oil red O stain, $\times 200$ & $\times 400$.

Table 4. Organ weight of SKH-1 hairless mice after 4-week experiment

Groups	Normal	Control			Experimental
	N	C	VC	PC	E
Spleen	0.12 ± 0.03 ^{1)a}	0.12 ± 0.03 ^a	0.13 ± 0.04 ^a	0.19 ± 0.03 ^b	0.12 ± 0.04 ^a
	0.44 ± 0.09 ^{2)a}	0.43 ± 0.10 ^a	0.47 ± 0.10 ^a	0.65 ± 0.09 ^b	0.43 ± 0.15 ^a
Thymus	0.04 ± 0.01 ^{ab}	0.05 ± 0.01 ^b	0.04 ± 0.01 ^{ab}	0.03 ± 0.01 ^a	0.03 ± 0.01 ^a
	0.14 ± 0.02 ^{ab}	0.18 ± 0.04 ^b	0.16 ± 0.04 ^{ab}	0.12 ± 0.03 ^a	0.12 ± 0.04 ^a

Values are means ± SD of 5 mice

¹⁾Absolute weight: g

²⁾Relative weight: g/100 g body weight

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

성대조군과 백작약 열수추출물 도포군은 대조군에 비해 lipid lamella가 비교적 규칙적이고 지방량도 많음을 확인하였다.

5. 장기무게 변동

적출한 비장 및 흉선 무게를 측정된 결과는 Table 4와 같다. 비장의 절대무게와 상대무게에 있어서 양성대조군은 다른 군에 비해 유의하게 높았다. 흉선의 절대무게와 상대무게는 다른 군에 비해 대조군이 높은 경향을 보였다. Retinoic acid를 도포한 양성대조군에서 비장 무게의 유의한 증가는 면역학적인 안전성 측면에서 추가적인 확인이 필요할 것이라고 생각된다.

결 론

홍반도는 실험 28일에 백작약 열수추출물 도포군이 대조군에 비해 유의하게 낮은 수치를 보여 염증정도가 상대적으로 낮았음을 유추할 수 있었다. 이를 조직학적으로 확인한 결과 대조군은 진피내 호중구, 림프구, 대식구가 상당수 관찰되었고, 표피층의 비후, 피지선의 증식과 함께 진피와 피하층내 mast cell의 침윤과 탈과립 정도가 현저하게 나타난 반면, 백작약 열수추출물 도포군은 염증관련 세포와 mast cell의 침윤이 대조군에 비해 많이 줄어들어 있었다. 이를 통해 백작약 열수추출물이 광노화로 인해 발생하는 피부조직의 염증을 경감시키는 효과가 있음을 확인하였다.

피부의 유분함량은 실험 28일에 백작약 열수추출물 도포군은 대조군과 비해 약 83.3% 높았고 수

분함량은 백작약 열수추출물 도포군이 대조군, 용매대조군, 양성대조군에 비해 높았다. 피부의 유분과 수분함량에 있어서 백작약 열수추출물 도포군이 대조군에 비해 높게 나타나 피부장벽 손상정도가 상대적으로 적음을 유추할 수 있었다. 이를 조직학적으로 확인한 결과 대조군은 각질층의 lipid lamella가 불규칙적이고 지방량이 적은 반면, 백작약 열수추출물 도포군은 lipid lamella가 비교적 규칙적이고 지방량도 많음을 관찰하였다. 이를 통해 백작약 열수추출물이 피부장벽보호에 효과적임을 확인할 수 있었다.

Retinoic acid를 도포한 양성대조군에서 비장의 절대무게와 상대무게 모두 다른 군에 비해 유의하게 높게 나타나 면역학적인 안전성 측면을 의심케 하는 반면, 백작약 열수추출물 도포군은 정상군과 비슷한 수치를 나타냈다.

이상의 실험결과를 통해 백작약 열수추출물은 염증 경감 및 피부장벽 손상 완화에 효과가 있음을 확인하였으며 광노화로 인한 피부손상 억제/개선 물질로서의 이용가능성이 높을 것으로 판단된다.

참 고 문 헌

- 강병철, 이나래, 권은아, 강창길, 정희원, 박상영, 이상구, 이국현, 성명훈, 정진호, 레티놀 크림 I·II의 피부자극성 및 안점막자극성에 관한 연구, 한국실험동물학회지 2002; 18(4): 177-183.
- 김주덕, 엄정너. 한방 화장품 구매행동에 관한 실증적 연구, 대한화장품학회지 2004; 30(1): 93-102.
- 최현주, 한승경, 박윤기. 각종 자외선차단제들의 자외선 B

- 에 의한 피부 손상에 대한 예방효과, 대한피부과학회지 1995; 33(1): 8-18.
- Aimi N, Inaba M, Watanabe M and Shibata S. Chemical studies on the oriental plant drugs. XXIII. Paeoniflorin, a glucoside of Chinese paeony root, Tetrahedron 1969; 25(9): 1825-1838.
- Chiba K, Kawakami K, Sone T and 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 2003; 16(4): 242-251.
- Chiba K, Sone T, Kawakami K and Onoue M. Skin roughness and wrinkle formation induced by repeated application of squalene monohydroperoxide to the hairless mouse, Exp Dermatol 1999; 8(6): 471-479.
- Fisher GJ, Esmann J, Griffiths CEM, Talwar HS, Duell EA, Hammerberg C, Elder JT, Karabin GD, Nickoloff BJ, Cooper KD and Voorhees JJ. Cellular, immunologic and biochemical characterization of topical retinoic acid-treated human skin, J Invest Dermatol 1991; 96(5): 699-707.
- Kligman LH and Kligman AM. The nature of photoageing: its prevention and repair, Photodermatol 1986; 3(4): 215-227.
- Kligman LH, Crosby MJ and Higley H. The UVB-irradiated hairless mouse as a model for the evaluation of injectable collagen implants, J Dermatol Treat 1993; 4(1): 27-31.
- Park HR, Jung UJ, Jeoung IY, Yee ST and Jo SK. Inhibition of tumor growth through macrophage activation by polysaccharide fraction from *Peonia japonica*, J Korean Soc Food Sci Nutr 2003; 32(1): 149-154.
- Pathak MA. Formation of thymine dimers in mammalian skin by ultraviolet radiation in vivo, Photochem Photobiol 1972; 15(2): 177-185.
- Weiss JS, Ellis CN, Headington JT and Voorhees JJ. Topical tretinoin in the treatment of aging skin, J Am Acad Dermatol 1988; 19(1): 169-175.