

화학적 박피가 피부장벽에 미치는 영향에 대한 비교연구

연세대학교 의과대학 피부과학교실, *연세대학교 원주의과대학 피부과학교실

정세규 · 김 산 · 이은희 · 최용호* · 안성구* · 이승현

=Abstract=

Comparison of the Effect of Various Chemical Peeling Agents on the Skin Barrier

Sekyoo Jeong, San Kim, M.D., Eun Hee Lee, M.D., Eung Ho Choi*, M.D.,
Sung Ku Ahn*, M.D., Seung Hun Lee, M.D.

Department of Dermatology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea.

**Department of Dermatology, Yonsei University of Wonju College of Medicine, Wonju, Korea*

Background : Among the various methods for chemical peeling, it is possible to select a wide range of peeling agents for particular patients.

Objectives : The objective of present study was to investigate the effects of various chemical peeling agents on the epidermal permeability barrier of hairless mice skin and to clarify the histologic alteration in epidermal structure, thus to apply in the clinical practices.

Methods : We have applied 35% and 70% glycolic acid (GA) aqueous solutions, 30% of salicylic acid (SA) solution of PEG400, Jessner's solution and 15%, 30% and 50% of trichloroacetic acid (TCA) aqueous solution to the flank of hairless mice. TEWL (trans-epidermal water loss) values were measured before and immediately after the application and 3, 6, 12 and 24 hours following treatment. Biopsy specimens were evaluated with light and electron microscopy for epidermal structural changes.

Results : There were no significant changes in TEWL for the GA and SA solution treated skin, regardless of their concentration. For the TCA and Jessner's solution, TEWL increased immediately after treatment and recovered the basal levels about 90% after 24 hours for Jessner's solution and low concentrated TCA solution, but did not recovered for high concentrated TCA solution. On light and electron microscopic examination, exfoliating effect was seen in every case and as for SA and Jessner's solution treated skin, keratolysis at hair follicles was also seen. Slight epidermal necrosis was seen in every case, except in GA treated skin.

Conclusion : The present results suggest that using topical agents such as glycolic acid can induce the change in the architecture of the epidermis without disrupting the skin barrier.

(Korean J Dermatol 2002;40(10) : 1181~1187)

Key Words : Chemical peeling, Epidermal permeability barrier, Trans-epidermal water loss(TEWL), epidermal necrosis

서 론

화학 박피술은 주로 표피의 재생 및 진피연결조직의 재구성을 통하여 피부를 재생하기 위한 방법으로서 많이 쓰이고 있다. 이를 위해 주로 사용되는 물질로서는 trichloroacetic acid, alpha-hydroxy acid, salicylic acid 및 Jessner's solution 등이 있다¹. 피부에 화학 박피술을 시행함으로써

〈접수:2002년 6월 26일〉

교신저자 : 이승현

주소 : 135-270 서울특별시 강남구 도곡동 146-92

영동세브란스병원 피부과

전화 : (02)3497-3360 Fax : (02)3463-6136

E-mail : ydshderm@yumc.yonsei.ac.kr

표피 및 진피의 일부가 화학적으로 변성되고 최종적으로 박리되어 떨어져 나가게 되며, 이 때 화학 박피제가 영향을 미치는 피부의 영역에 따라 표층, 중층, 심층 박피술로 분류하기도 한다^{1,2}. 다양한 박피용 물질이 피부에 미치는 영향에 대한 개별적인 연구는 많이 보고된 바 있으나^{3,6}, 각 제재간의 차이 및 피부 장벽에 대한 영향에 대한 연구는 거의 보고된 바 없다. 따라서 저자들은 다양한 박피용 물질이 피부장벽의 손상과 회복에 미치는 영향을 종합적으로 관찰하고, 이들의 효과를 비교하고자 실험을 수행하였다. 실험에 사용한 제재는 glycolic acid, salicylic acid, Jessner's solution, trichloroacetic acid solution였으며 이들을 이용하여 화학 박피를 시행하고, 이에 따른 피부 장벽의 변화 및 조직의 변화를 각각 Tewameter와 전자현미경, 광학현미경을 이용하여 관찰하였다. 이를 위하여 다양한 농도의 박피용 제재를 hairless mouse의 배부에 도포한 후, 시간에 따른 TEWL(trans-epidermal water loss) 수치의 변화 및 조직학적 변화를 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 실험 동물 및 재료

생후 8-12주된 female hairless mouse(Hr/Hr)을 준비하여 동일한 표준사료로 사육한 후 실험에 사용하였다.

Glycolic acid, salicylic acid, trichloroacetic acid는 Sigma® (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 각각의 사용 농도에 맞도록 증류수에 희석하여 사용하였으며, salicylic acid의 경우는 사용 농도에 따라 PEG 400에 녹여 사용하였다. 또한 salicylic acid와 lactic acid, resorcinol의 최종농도가 각각 14%가 되도록 ethanol에 희석하여 Jessner's solution으로 사용하였다.

2. 실험방법

1) 화학 박피 시행 및 경표피수분손실(trans-epidermal water loss : TEWL)량 측정

실험에 사용한 glycolic acid solution은 35%, 70% 농도가 되도록 증류수에 희석하여 사용하였으며, trichloroacetic acid의 경우 15%, 30%, 50%가 되도록 희석하여 사용하였다. Salicylic acid는 30% 농도가 되도록 Macrogol 400에 희석하여 사용하였다. 각각의 용액은 hairless mouse의 배부에 동근 면봉을 사용하여 약 2-3회 도포한 후, TEWL을 측정하였다. TEWL은 Tewameter TM210®(C&K, Cologne, Germany)를 이용하여 측정하였으며, 처치 직전, 직후, 3, 6, 12, 24시간 후 측정하였다.

2) 광학 현미경 검사

각각의 용액을 도포한 부위에서 일정한 시간이 지난

후 피부를 생검하고, 일반적인 조직표본 제작 방법에 따라 10% 포르말린에 고정, 수세 및 파라핀 포매과정을 거쳐 5 μ m 두께로 절편하여 hematoxylin-eosin 염색을 시행한 후, 광학현미경 하에서 관찰하였다.

3) 전자 현미경 검사

조직을 얻은 후, 즉시 stereomicroscope 하에서 두께 1mm 이하로 세절한 후, 2% paraformaldehyde, 0.06% calcium chloride, 0.1M sodium cacodylate buffer (pH 7.4)로 제조된 modified Karnovsky 용액에 넣어 고정하였다. 고정된 조직을 실온에서 1시간 방치한 후, 4°C에서 overnight으로 보관하였다. Modified Karnovsky 용액을 제거한 후, 0.1M cacodylate buffer를 이용하여 40분씩 3회 세척하였다. 이후 후고정을 각각 최종 농도 1% OsO₄, 0.1M cacodylate buffer 용액에 빛을 차단한 상태에서 실온으로 1시간 동안 시행하였다. 후고정을 시행한 후, 0.1M cacodylate buffer에서 10분간 1회 세척하고, 50% ethanol로 5분씩 2회, 70%와 95% ethanol로 각 10분씩 2회, 100% ethanol로 각 20분씩 4회 탈수과정을 시행하였다. 탈수 후 100% propylene oxide로 각 15분간 2회 조직에 침투시키고, 일반적인 방법으로 만들어진 epon에 포매시켜 36시간 동안 78°C incubator에서 resin을 polymerization 하였다. 1-5 μ m 두께로 절편한 다음 관찰부위를 찾았으며, thin section을 시행한 후 통상적인 uranyl acetate와 lead citrate로 염색하여 투과 전자현미경 (Philips CM 10®)으로 관찰하였다.

3. 통계학적 분석

통계적 유의성은 Student's t-test를 사용하여 결정하였으며, 유의 수준은 0.05 이하로 시행하였다.

결 과

1. 경표피 수분손실 (TEWL)량의 변화

Glycolic acid를 이용하여 표층박피술을 시행한 결과, 사용 농도나 중화제의 사용 여부에 관계없이 24시간까지 TEWL 수치에 있어서 유의한 변화를 나타내지 않았다 (Fig. 1). 또한 Jessner's solution의 경우 처치 직후 급격히 증가하였다가 24시간까지 완만히 회복되는 양상을 나타내었으며, Jessner's solution의 조성물을 각각 제조하여 처치한 결과, resorcinol을 제외한 lactic acid와 salicylic acid를 도포한 후에는 TEWL이 증가되지 않았다 (Fig. 2). Tichloroacetic acid를 이용한 박피술의 경우, 15% 용액을 사용한 경우 처치 직후 TEWL 수치가 증가하였다가 감소하는 경향을 보이는 데 반해, 30%, 50% 용액을 사용한 경우, 처치 직후 증가한 TEWL 수치가 24시간 이후에도 감소하지 않고 계속 유지되었다 (Fig. 3). Jessner's solution

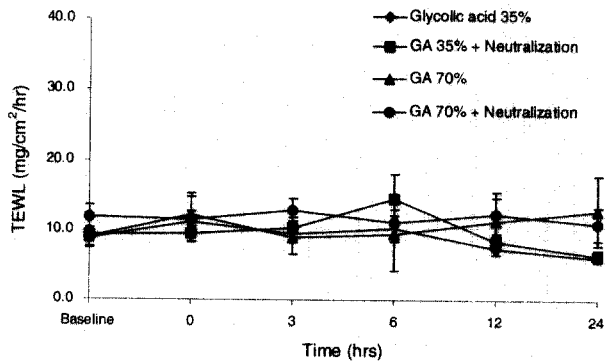


Fig. 1. The changes of trans-epidermal water loss (TEWL) value in glycolic acid treated group. Note that the concentration of glycolic acid or use of neutralizing solution did not affect the TEWL changes. Data points represent the mean \pm standard deviation (n=5). All data show $p>0.05$ with two-tailed Student's t-test.

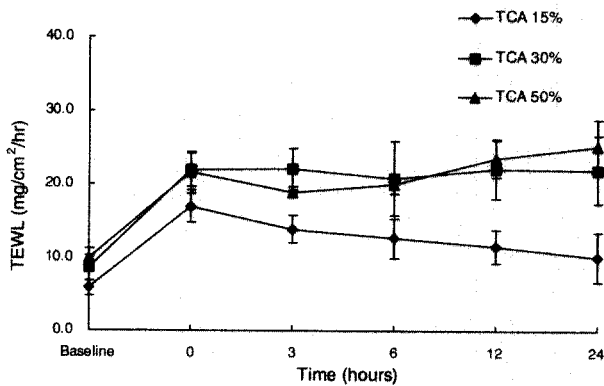


Fig. 3. The changes of trans-epidermal water loss (TEWL) value in trichloroacetic acid treated group. Note the initial increase after treatment and no recovery for 30% and 50% TCA solution treated skin. Data points represent the mean \pm standard deviation (n=5).

과 trichloroacetic acid를 연속하여 도포하는 combination peeling 후에는 TEWL은 급격하게 증가되었다가 24시간 후 까지 완전한 회복을 나타내었으며, 두 agent의 사용 순서는 TEWL 수치에 영향을 미치지 않았다 (Fig. 4).

2. 광학 및 전자현미경 관찰

각각의 peeling agent에 대하여 처치 직후와 3시간 후의 조직을 생검하여 광학현미경과 전자현미경으로 관찰하였다. 광학현미경 관찰 결과, 실험에서 사용한 모든 peeling

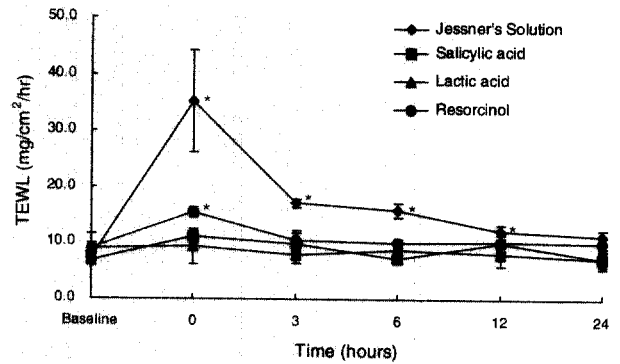


Fig. 2. The changes of trans-epidermal water loss (TEWL) value in Jessner's solution salicylic acid, lactic acid and resorcinol treated group. Note the increase of TEWL values in Jessner's solution and resorcinol treated group ($p<0.05$ for asterisk). Salicylic acid and lactic acid treated skin showed no changes. Data points represent the mean \pm standard deviation (n=5).

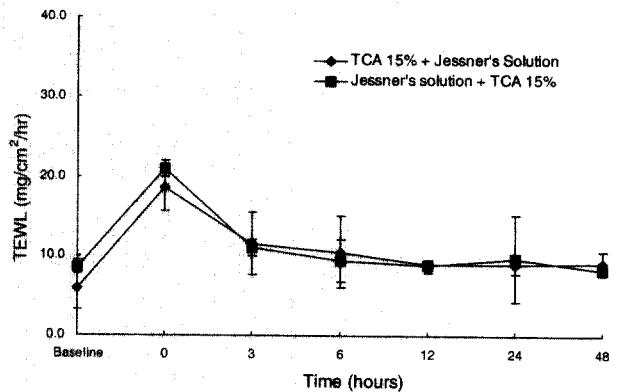


Fig. 4. The changes of trans-epidermal water loss (TEWL) value in Jessner's solution and 15% TCA solution combination peels. There was no difference in TEWL recovery regardless of treatment sequence. Data points represent the mean \pm standard deviation (n=5).

agent가 각질층의 박리효과를 나타내는 것으로 나타났으며, 특히 salicylic acid와 같은 beta-hydroxy acid를 사용하는 경우, 모낭내 각질층의 박리 효과가 명확하게 관찰되었다(Fig. 5).

Osmium tetroxide staining을 통하여 표피 구조를 전자현미경으로 관찰한 결과, glycolic acid를 도포한 후에는 표피의 변화가 나타나지 않았으나 salicylic acid, trichloroacetic acid, Jessner's solution를 각각 도포한 후에는 모두 표피피사가 관찰되었다(Fig. 6).



Fig. 5. Exfoliating effects of various peeling agents just after treatment (A, C, E, G) and 3 hours after (B, D, F, H). 30% Glycolic acid (A, B), Jessner's solution (C, D), 30% salicylic acid solution (E, F) and 15% TCA solution treated skin (G,H) showed significant exfoliating effects in epidermis, and salicylic acid and Jessener's solution treated skin showed more significant exfoliating effects on hair follicle. (H&E. $\times 400$).

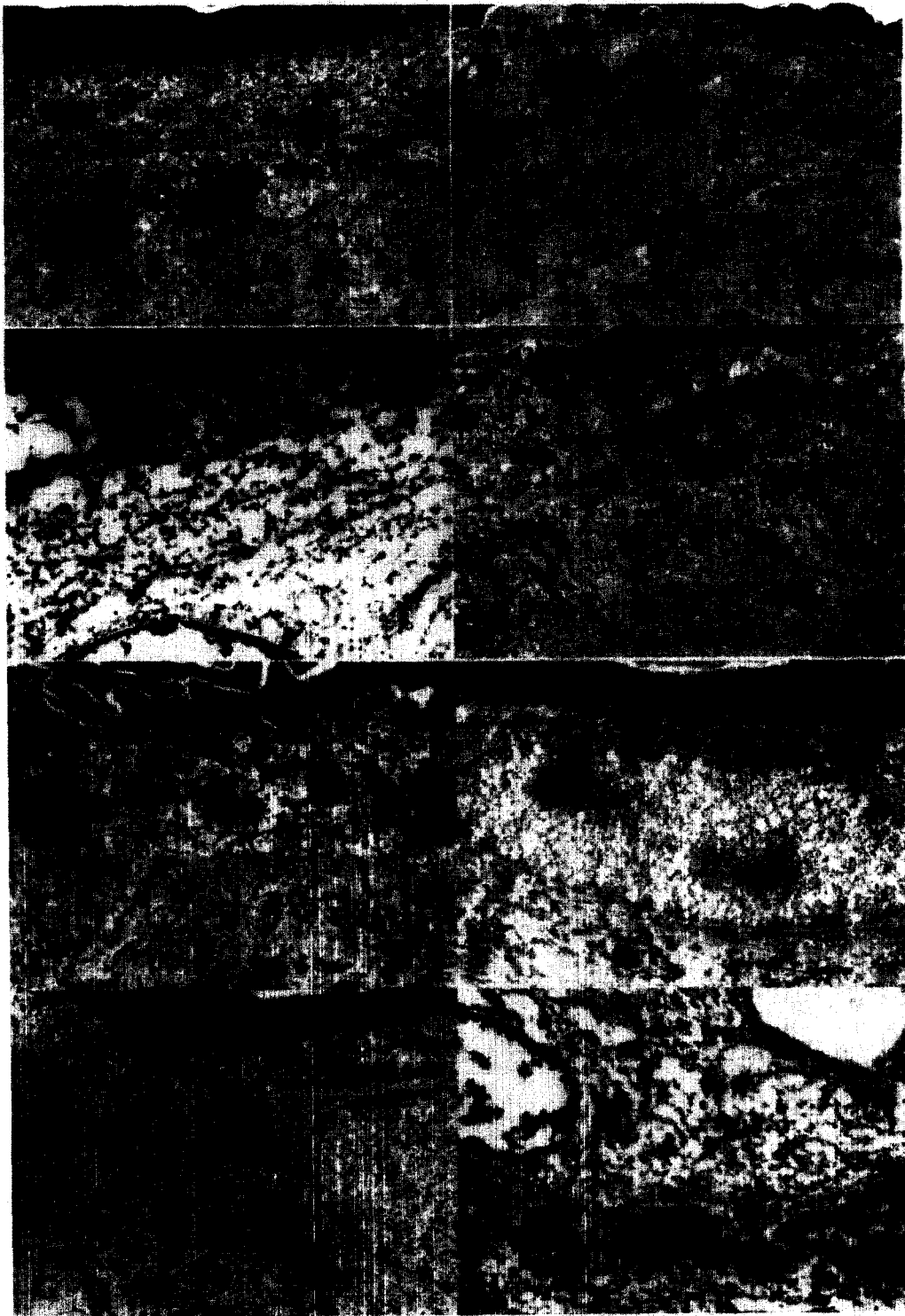


Fig. 6. Electron micrographs of the hairless mouse skin treated with various peeling agents just after treatment (A, C, E, G) and 3 hours after (B, D, F, H). 30% Glycolic acid (A, B) treated skin showed almost normal morphology, but Jessner's solution (C, D), 30% salicylic acid solution (E, F) and 15% TCA solution treated skin (G,H) showed significant epidermal degeneration in epidermis. (OsO4 post-fixation, 10k).

고 찰

화학박피는 *alpha-hydroxy acid*, *trichloroacetic acid* 용액이나 *phenol* 등과 같은 부식성 용액을 피부에 도포함으로써 피부의 정상적인 박리과정을 인위적으로 촉진하는 것으로서, 부식성이 약한 용액을 사용하는 경우 각질층의 박리 효과를 나타내며, 부식성이 강한 용액의 경우 표피와 유두진피, 망상진피의 일부분에까지 괴사와 염증을 유발하게 된다. 화학 박피에 의한 피부의 변화는 크게 세 가지 기전에 의한 것으로 나눌 수 있다. 첫 번째로는 피부 각질층을 제거함으로써 표피의 증식을 촉진하는 것으로, 표피조직의 괴사를 유발하지 않는 매우 약한 수준의 용액을 사용하는 경우에도 표피의 증식이 유발되며, 두 번째로는 손상을 입은 피부의 특정 층을 제거하고, 보다 정상적인 조직으로 대체하는 것으로, 특히 비정상적인 색소침착이나 광선각화증의 개선에 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다. 마지막으로 박피 용액에 의하여 괴사가 일어나는 부위 이하의 조직에서 염증반응을 유발하여, 새로운 교원질이나 기저물질의 생성을 촉진하는 기전을 들 수 있다⁷. 박피용액이 피부에 미치는 효과가 깊을수록 합병증의 위험이 높고 회복에 시간이 많이 걸리므로, 가능한 한 낮은 수준의 괴사를 일으키며 가능한 한 높은 수준의 조직 생성을 촉진하는 것이 가장 이상적인 화학 박피의 목표가 된다.

화학 박피의 일반적인 분류는 피부 손상이 미치는 영역에 따라 크게 표층, 중층, 심층 박피로 분류되며, 표층 박피의 경우 표피 전체에 손상을 입히게 된다. 중층 박피의 경우 표피와 유두진피의 일부분에 손상을 가하게 되며, 심층 박피의 경우 표피, 유두진피 및 망상진피의 일부분에 손상을 가하는 것을 포함한다. 일반적으로 사용되는 박피 용액으로는 *alpha-hydroxy acid* (AHA), *trichloroacetic acid* (TCA), *salicylic acid*, *resorcinol*, *Jessner's solution*, *alpha-keto acids* (*pyruvic acid*), *phenol* 등이 있다. 박피 시 사용하는 용액의 종류, 용액의 농도, 도포 횟수, 도포 방법, 피부의 타입 등이 박피의 강도를 조절하는 대표적인 인자이며, 특히 AHA의 경우 피부와의 접촉시간이 중요한 인자로 작용하기도 한다⁸.

최근 표층 박피술에 흔히 사용되고 있는 *alpha-hydroxy acid*는 일종의 유기산으로서 특히 과산화에 효과가 있는 것으로 알려져 있다⁹. AHA가 피부에 미치는 영향의 작용 기전은 아직 알려져 있지 않으나, 표피와 진피에 각각 서로 다른 영향을 미치는 것으로 보여진다. 표피의 경우, AHA는 과립층에서 각질형성세포들간의 연결을 약화시키고 새로운 표피의 재생피화를 촉진시키는 각질용해 작용이 있으며, 이러한 과정을 통하여 비정상적으로 두꺼워진 각질층을 정상화하는 것으로 알려져 있다³. 또한 진

피에 대한 효과로는 교원질의 증가와 점다당질(*glycosaminoglycan*)의 증가 등이 보고된 바 있다¹⁰. 특히 *glycolic acid*를 사용하는 경우 이러한 피부의 변화가 염증의 징후 없이 일어나는 것으로 알려져 있으며, TEWL 수치도 정상피부와 비교하여 증가하지 않는다는 보고가 있었다⁵. 또한 저자들이 행한 실험에서도 *glycolic acid*를 이용한 화학 박피에서 TEWL의 의미 있는 증가는 나타나지 않았다. 또한 광학현미경과 전자현미경에 의한 관찰에서도 조직의 괴사나 변성이 발견되지 않았으며, 특히 전자현미경에 의한 관찰에서는 충판소체의 분비가 증가되는 등 장벽 회복 기능이 나타나는 것으로 관찰되었다. 이러한 결과는 *glycolic acid*가 피부에 미치는 영향이 단순한 부식성 물질에 의한 각질층의 제거가 아닌 다른 기전을 통해 이루어지는 것으로 설명할 수 있으며, 이에 대한 연구가 추후 필요할 것으로 생각된다.

*Jessner's solution*은 *resorcinol*, *salicylic acid*, *lactic acid*가 각각 14%의 최종농도를 지니도록 제조된 용액으로서, 단독으로 사용하는 경우 표층박피술의 효과를 나타내며, 35% TCA 용액과 *combination peel*로 사용하기도 한다¹¹. 저자들이 행한 본 실험에서는 *Jessner's solution*을 단독으로 사용하는 경우와 35% TCA 용액과 *combination peel*을 행한 경우 모두 처치 직후 TEWL 수치의 급격한 증가와 완만한 회복 경향성을 나타내었다. 또한 *Jessner's solution*의 구성성분에 대하여 각각 시행한 실험에서 14%의 *salicylic acid*와 *lactic acid* 용액을 사용하여 박피를 시행한 경우, TEWL은 의미 있는 증가를 보이지 않았으며, 14% *resorcinol* 용액의 경우 미약한 증가를 나타내었다. 이러한 결과를 통하여 볼 때, *Jessner's solution*에 의한 TEWL의 증가는 *resorcinol*과 *salicylic acid*, *lactic acid*의 복합적인 작용에 의한 것으로 설명할 수 있다.

결 론

일반적으로 화학 박피술에 사용하는 다양한 제재들이 피부의 장벽 기능 및 구조에 미치는 영향을 확인하기 위한 본 연구에서 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. *Jessner's solution*, TCA 용액을 제외한 모든 제재에 대하여 처치 후 TEWL의 유의한 변화는 관찰되지 않았다.
2. 광학 현미경과 전자 현미경상 관찰의 결과 실험에 사용한 모든 제재에서 각질층의 용해를 확인할 수 있었다.
3. *alpha-hydroxy acid*의 일종인 *glycolic acid*를 제외한 모든 박피용 제재에서 표피 구조의 변성을 확인할 수 있었다.

이러한 실험의 결과를 통하여 피부 장벽에 영향을 미치는 화학 박피 제재를 이용하여 약물의 경피흡수를 촉진하는 전처리 과정으로서의 가능성을 확인할 수 있었으며, 특히 피부장벽에 영향을 미치지 않으며, 표피의 변성

을 일으키지 않으면서 박피의 효과를 유도할 수 있는 박피용 제제에 대한 가능성을 확인할 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Kauvar ANB, Dover JS. Facial skin rejuvenation: Laser resurfacing or chemical peel: Choose your weapon. *Dermatol Surg* 2001;27:209-212
2. Monheit GD. Chemical peeling vs. Laser resurfacing. *Dermatol Surg* 2001;27:213-214
3. Kim TH, Choi EH, Kang YC, Lee SH, Ahn SK. The effects of topical α -hydroxyacids on the normal skin barrier of hairless mice. *Br J Dermatol*. 2001;144:267-273
4. Imayama S, Ueda S, Isoda M. Histologic changes in the skin of hairless mice following peeling with salicylic acid. *Arch Dermatol*. 2000;136:1390-1395
5. Berardesca E, Distanto F, Vignoli GP, Oresajo C, Green B. Alpha hydroxyacids modulate stratum corneum barrier function. *Br J Dermatol*. 1997;137:934-938
6. Rawlings AV, Davies A, Carlomusto M, Pillai S, Zhang K, Kosturko et al. Effect of lactic acid isomers on keratinocyte ceramide synthesis, stratum corneum lipid levels and stratum corneum barrier function. *Arch Dermatol Res*. 1996;288:383-390
7. Rubin MG. Manual of chemical peels: Superficial and medium depth. 1st ed. Philadelphia: J.B. Lippincott Company, 1995:17-25
8. Dinardo JC, Grove GL, Moy LS. Clinical and histological effects of glycolic acid at different concentrations and pH levels. *Dermatol Surg* 1996;22:421-424
9. Moy LS, Peace S, Moy RL. Comparison of the effect of various chemical peeling agents in a mini-pig model. *Dermatol Surg* 1996;22:429-432
10. Moy LS, Howe K, Moy RL. Glycolic acid modulation of collagen production in human skin fibroblast cultures in vitro. *Dermatol Surg* 1996;22:439-441
11. Grimes PE. Agents for ethnic skin peeling. *Dermatologic Theraphy* 2000;13:159-164