

Linoleic Acid가 포함된 Multi-lamellar Emulsion의 국소 도포가 실험적으로 유도된 면포 생성에 미치는 영향

연세대학교 의과대학 피부과학교실¹, (주)네오팜 부설연구소², 연세대학교 의과대학 피부생물학연구소³

이상은¹ · 정세규¹ · 염종경² · 이승현^{1,3}

Effect of Topically Applied Multi-lamellar Emulsion Containing Linoleic Acid on Experimentally Induced Comedones

Sang Eun Lee, M.D.¹, Se Kyoo Jeong¹, Jong Kyung Youm², Seung Hun Lee, M.D.^{1,3}

Department of Dermatology, Yonsei University College of Medicine¹, Seoul, NeoPharm Co., Ltd.², Daejeon, Cutaneous Biology Research Institute, Yonsei University College of Medicine³, Seoul, Korea

Background: Disturbed keratinization of the follicular infundibulum is the earliest change in comedo formation. The relative decrease in linoleic acid in the sebum could be responsible, in part, for this abnormal keratinization.

Objective: This study was conducted to evaluate the effects of topically applied multi-lamellar emulsion containing linoleic acid (MLE/LA) on experimentally induced comedones.

Methods: To induce comedo formation, 50% oleic acid (OL) in macrogol 400 was applied to the ventral surface of both ears of New Zealand white rabbits. Twenty ears of ten rabbits were randomly divided into four treatment groups (5 ears in each group). Four groups (OL only, OL and MLE/LA, OL and MLE, OL and control vehicle containing LA) were treated twice daily for 2 weeks. The relative increase in areas of the comedo was evaluated by digital image analysis. The morphologic changes around the epithelial lining of the comedo were observed by light microscopy and scanning electron microscopy.

Results: After 2 weeks of application, only the OL and MLE/LA combined treated group showed significantly less (by 1.23-fold, $p < 0.05$) increase in comedo size when compared to the OL treated group (by 1.86-fold). Upon light microscopy and scanning electron microscopy examination, the MLE/LA treated ears showed a lesser degree of epidermal hyperplasia and hyperkeratosis in the follicular infundibulum compared with the OL treated ears.

Conclusion: Topical MLE/LA might have an inhibitory effect on the formation of OL induced comedones. (**Korean J Dermatol 2007;45(3):249~254**)

Key Words: Comedone, Linoleic acid

서 론

여드름의 병인에는 다양한 인자가 관여하며 여러 인자의 상호작용에 의해 임상증상이 나타난다. 면포 형성, 남성 호르몬에 의해 유발된 피지분비의 증가, 박테리아의 증식, 염

증유발 등이 여드름의 주요 4가지 병인으로 알려져 있으며, 이외에도 장벽 기능의 이상이 면포 형성 과정에 관련이 있는 것으로 알려져 있다¹. 이러한 여드름의 병인 중에서 모낭 누두부의 이상 각화가 가장 초기 변화로 생각되며, 이는 면포 형성에 중요한 역할을 한다². 과각화증에 의한 면포형성 기전은 아직 불명확하나 피지 내 지질의 조성이 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다³. 여러 연구를 통하여 여드름 환자들의 피지 분비는 정상인보다 높은 것으로 밝혀져 있다. 피지 분비가 활발하게 일어나면 세포막의 구성 지질로서 일정한 양을 가지고 있는 cholesterol, cholesterol ester, linoleic acid (LA)의 상대적인 양은 피지 내의

<접수: 2006년 8월 3일>

교신저자: 이승현

주소: 135-720 서울시 강남구 도곡동 146-92

연세대학교 의과대학 영동세브란스병원 피부과

전화: 02)2019-3360, Fax: 02)3463-6136

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

wax ester나 triglyceride 등에 의해 희석된다⁴. 결국 피지 형성 증가에 따른 피지 내 지질 성분의 변화는 LA와 cholesterol은 감소되고 squalene과 triglyceride 그리고 triglyceride의 분해물질인 자유지방산은 증가하는 방향으로 변화된다⁵. Cholesterol의 감소는 각질세포 사이의 결합을 증진시켜 모낭 과각화증을 초래하며, 증가된 자유지방산과 squalene은 모낭을 자극하여 과각화증을 일으키는 것으로 보고되었다. 특히 모피지선 내 LA의 상대적인 농도의 감소가 모낭 내 인설, 즉 과각화증을 일으켜 면포 형성을 촉진할 것으로 생각된다^{2,6}. LA는 동물의 생체 내에서는 합성될 수 없고 외부로부터 섭취를 해야만 농도를 유지할 수 있는 필수 지방산으로, 동물 실험에서 이의 결핍 시에는 전신적인 인설을 형성한다고 보고된 바 있으며⁷ LA의 국소 도포가 여드름 환자에게서 면포용해 작용이 있다는 보고도 있었다².

따라서 본 연구에서는 LA가 포함된 국소제, 특히 LA가 포함된 다중층상유화물(multi-lamellar emulsion, MLE)의 국소 도포가 실험적으로 유발되는 면포의 생성을 억제하는 효과가 있을 것이라 예상하고 토끼의 귀에 면포유발물질을 도포하여 실험적으로 면포를 유도하였을 때 LA를 같이 도포해준 군과 도포해주지 않은 군 간의 생성된 면포의 면적을 디지털 영상 분석(digital image analysis), 광학현미경(light microscopy)과 주사 전자현미경(scanning electron microscopy)을 통해 비교 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 실험 동물

체중 약 3.5 kg의 뉴질랜드 흰색 수토끼 10마리를 사용하였다.

2. 면포의 유도

면포 유발 물질은 macrogol 400 (Polyethylene glycol, Mw. 400, Sigma, St. Louis, MI, USA)에 용해시킨 50% oleic acid (OL, Sigma, St. Louis, MI, USA)⁸를 사용하였다.

3. 실험 약제

피부 장벽 손상 후 회복에 효과가 있는 것으로 알려진 MLE⁹를 기본 기제로 하여 0.5% LA (Sigma, St. Louis, MI, USA)가 포함된 MLE (MLE/LA)를 사용하였다. 대조군에는 MLE와 구성 성분은 거의 동일하나 다중층상의 구조는 가지지 않는 지질 혼합물을 대조기체(control vehicle)로 사용하여 0.5% LA가 포함된 대조기체(control vehicle/ LA)와 LA를 포함하지 않은 MLE를 사용하였다.

4. 실험군과 약물 도포

10마리 토끼의 양쪽 귀 총 20개는 무작위적으로 4군으로 나누었다(n=5). 대조군(OL 도포군)에는 OL만을 매일 2회 2주간 외이도에 가까운 복측에 도포하였고, 나머지 3군

은 각각 OL과 MLE/LA를 동시에 도포한 군(MLE/LA 도포군), OL과 control vehicle/LA를 동시에 도포한 군(control vehicle/LA 도포군), OL과 MLE를 동시에 도포한 군(MLE 도포군)으로 나누어 해당하는 실험약제를 같은 방법으로 도포하였다.

5. 면포의 관찰

토끼의 외이도에서 면포 생성을 측정하기 위하여 접촉현미경을 이용하여 촬영한 피부 표면의 사진을 image analysis 프로그램(BMI plus SE, Winatech, Ansan, Korea)을 이용하여 분석하였다.

6. 광학현미경 검사

면포 형성 부위에서 6 mm punch biopsy를 이용하여 조직 생검을 시행하여 통상의 조직 표본 제작에 따라 포르말린에 고정, 수세 및 파라핀 포매과정을 거쳐 5 μ m 두께로 절편하여 hematoxylin-eosin 염색을 시행한 후 광학현미경 하에서 모낭두부의 과각화증과 표피 과증식의 정도를 관찰하고 각 군별로 비교하였다.

7. 주사 전자현미경 검사

면포 형성 부위에서 6 mm punch biopsy를 이용하여 조직 생검을 시행하고, 3% glutaldehyde 용액(PBS, pH 7.4)에서 고정한 후, 1% osmium tetroxide 용액에서 후고정하였다. 고정된 조직을 탈수한 후, isoamyl acetate 용액으로 옮기고, critical point dryer (ICP 2, Hitachi High-Technologies Co., Japan)를 이용하여 건조하였다. Sputter coater를 이용하여 금으로 코팅한 후, S-450 주사전자현미경(Hitachi High-Technologies Co., Japan)을 이용하여 15 kV 하에서 관찰하였다.

8. 면포 면적의 변화 측정 방법

면포가 차지하는 영역의 상대적인 증가는 histoplanimetry 방법을 이용하여 측정된 모낭두부 부위의 면적을 이용하여(처치 전의 면적/처치 후의 면적)으로 계산하였다¹⁰.

9. 통계학적 처리

실험 약제에 따라 분류된 4군 간의 면포의 크기 증가 정도를 비교하고 LA의 면포 유발 억제 효과를 입증하기 위하여 two-tailed Student's t-test를 시행하였으며 통계적으로 p value가 0.05 이하인 경우를 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

1. 디지털 영상 분석

LA가 포함된 MLE를 도포하였을 때 OL에 의한 면포 유발이 억제될 것이라는 가설하에 2주간 OL만 도포한 군과 OL과 MLE/LA를 동시에 도포한 군, OL과 control vehicle/