

라벤더 에탄올 추출물의 피지생성 억제효과

Inhibitory Effects of the Ethanol Extract of

Lavandula vera on Sebum Synthesis

박시준 · 김호민 · 한규수 · 성금수 · 신미란¹ · 문연자 · 우원홍

Si-Jun Park · Ho-Min Kim · Kyu-Soo Han · Geum-Su Seong · Mee-Ran Shin¹ · Yeun-Ja Mun
· Won-Hong Woo

원광대학교 한의학전문대학원 한약자원개발학과, 1: 한림대학교 한강성심병원 보철학과교실
*Department of Herbal Resources, Professional Graduate School of Oriental Medicine,
Wonkwang University, 1: Dept. of Prosthodontics, Hangcred Sacred Heart Hospital, Hallym University
Medical Center*

- Abstract -

Lavandula vera is indispensable member of the herb family, used for perfumes and potpourri. Androgens have profound effects on the physiology of the sebaceous gland. Sebum is secreted due to the effect of androgen, which starts to be secreted at puberty. Using the human sebocyte cell line SZ95, the author investigated the inhibitory effect of *Lavandula vera* on the lipid production. Light microscopic finding were examined numerous cytoplasmic lipid droplets SZ95 cells by Oil red staining and lipid droplets were increased markedly by testosterone. On the other hand, combined treatment with *Lavandula vera* and testosterone resulted in a lower lipid droplets than with testosterone alone in a dose-dependent manner. These findings indicate that *Lavandula vera* acts antagonistically to testosterone and inhibits the lipid synthesis of SZ95 cells at the cellular level.

Key words : *Lavandula vera*, Sebaceous lipid, Testosterone

I. 緒 論

라벤더는 *Lavandula*(라벤더)속 Labiatae(꿀풀)과로 학명은 *Lavandula dentata vera*이며, 소염, 살균, 세포성장촉진, 반흔형성, 소독, 피지 분비조절의 작용으로 여드름, 습진, 일광 화상에 좋은 효과가 있어서 향기요법에서 많이 응용하는 약재이다^{1,2)}. 라벤더는 상처치유를 촉진시키고 흉터를 적게 남길 목적으로 사용되어 왔으며, 역학조사에

서 피부 소양증, 피부염, 습진 등과 같은 피부 질환의 증상을 완화시키는데 효과가 있는 것으로 확인되었다³⁾. 또한 라벤더를 피부에 국소도포하면 알레르기 전달 통로를 부분적으로 억제하는 효과가 있으며, 마우스의 피부에 국소도포 및 피하 주사 후 라벤더의 농도증가에 따라 비만세포에 의한 귀의 종창 반응의 억제효과가 큰 것으로 확인되었다⁴⁾.

여드름은 면포, 구진, 농포, 낭종 및 결절을 특징으로 하며 사춘기와 젊은 연령층에 주로 발생하는 모낭피지선의 만성 염증성 질환⁵⁾으로 여드름의 주원인이 되는 피지(sebum)는 모발을 매끄럽게 하며 수분의 증발 억제작용, 살균작용, 유화작용, 흡수조절작용, 보호작용, 알칼리 중화, 배설작

* 교신저자: 우원홍, 전북 익산시 신용동 344-2,
원광대학교 한의학전문대학원 한약자원개발학과,
Tel: 063-850-6845, Email: whwoo@wku.ac.kr

용 등을 하는 것으로 알려져 있다⁶⁾.

여드름 치료를 위한 한약재의 실험적 연구로 청상방풍탕(淸上防風湯)⁷⁾, 승마위풍탕(升麻胃風湯)⁸⁾, 연교패독산가미방(連翹敗毒散加味方)⁹⁾ 등의 많은 보고가 있으며, 두 등¹⁰⁾은 어성초추출물의 외용요법에 대한 임상연구를 보고하였고, 문 등¹¹⁾은 사람의 정상 피지선세포의 특징을 지니고 있는 세포주인 SZ95 세포를 이용하여 retinolic acid의 피지생성 억제효과를 보고하였다.

본 실험에서는 피지분비와 관련된 활성물질의 탐색을 위하여 primary human sebocyte의 특징을 지닌 SZ95세포주를 이용하여 testosterone에 의하여 과생성된 피지에 대한 라벤더에탄올추출물의 항안드로젠 효과를 조사하였다.

II. 材料 및 方法

1) 약재

실험에 사용된 라벤더는 자연사랑 영농조합에서 제공한 규격품을 정선하여 사용하였으며, 약재는 원광대학교 한의학전문대학원 약재보관 냉동고에 보관하면서 사용하였다.

2) 시료의 추출

국산 규격품인 라벤더 100 g에 ethanol 1 L를 가하여 밀봉하여 6시간 동안 실온에서 냉침 시킨 후 거즈로 여과하여 감압 농축 후 14.86 g의 시료(수득률: 14.86%)를 얻어 냉장 보관하였으며, 시료는 분주하여 dimethylsulfoxide(DMSO, Sigma사, USA)에 녹여 사용하였다.

3) 세포주 및 세포배양

분양받은 human immortalized sebocytes(SZ95) 세포를 10% FBS가 첨가된 sebocyte basal medium을 사용하여 CO₂ incubator(37°C, 5% CO₂)에서 배양하였다. 그리고 72시간 주기로 배양액을 교체하여 주었다.

4) 세포생존율(cell viability) 측정

세포의 생존율은 Mosmann의 방법¹²⁾으로 측정하였다. 24 well plate에 B16/F10세포 또는 SZ95세포를 3×10⁴개/well 씩 분주하여 안정화시

킨 후 라벤더에탄올추출물을 12.5, 25, 50 µg/ml 농도로 처리하고 3일간 배양하였다. 배양완료 후 37°C에서 0.05% MTT용액에 2시간 처리한 다음 상층액을 제거하고 formazan 침전물을 DMSO(1 ml)에 실온에서 15분간 녹인 후 540 nm의 파장에서 ELISA reader로 흡광도를 측정하였다.

5) 광학현미경 관찰

Sebocytes(SZ95) 세포의 형태는 배양완료 후 inverted microscope(Phase contrast, LEICA, Germany)을 이용하여 관찰하였다.

6) Oil-red stain

Sebocytes(SZ95)세포를 10% FBS가 첨가된 sebocyte basal medium를 넣고, chamber slide(lab-Tek, 8 well glass slide)에 3×10⁴개를 분주하여 CO₂ incubator(37°C, 5% CO₂)에서 48시간 배양한 후, sebocyte serum-free medium을 이용하여 5일 동안 CO₂ incubator(37°C, 5% CO₂)에서 배양하였다. 배양된 sebocytes(SZ95) 세포를 PBS로 2회 씻은 후 건조하고 0.5% Oil red solution으로 1시간 염색하였다. 염색 후 85% propylene glycol 용액에 1분 동안 처리하고 3차 증류수에 2회 씻은 다음 hematoxylin으로 염색하고 봉입 후 광학현미경으로 lipid droplet을 관찰하였다.

7) 통계학적 분석

실험결과는 mean±S.D로 표시하였다. 각 군 간의 통계적 유의성에 대한 검증은 one-way ANOVA test를 이용하여 p-value를 구하여 유의성을 검증하였다. p값이 0.05 이하인 경우 유의성을 인정하였다.

III. 實驗 結果

1. 세포생존율(cell viability)

SZ95세포에 대한 라벤더에탄올추출물 자체의 세포독성 효과를 알아보기 위하여 24 well plate 각 홀에 3×10⁴개/well 씩 분주하여 48시간 배양한

후 라벤더에탄올추출물을 10, 25, 50 $\mu\text{g/ml}$ 농도 별로 처리한 다음 3일간 배양하였다.

라벤더에탄올추출물의 농도가 증가함에 따라 SZ95세포의 생존율이 점차 감소하였으며, 라벤더에탄올추출물 50 $\mu\text{g/ml}$ 농도로 3일간 처리한 군의 생존률은 대조군의 72.4%였다(Fig. 1).

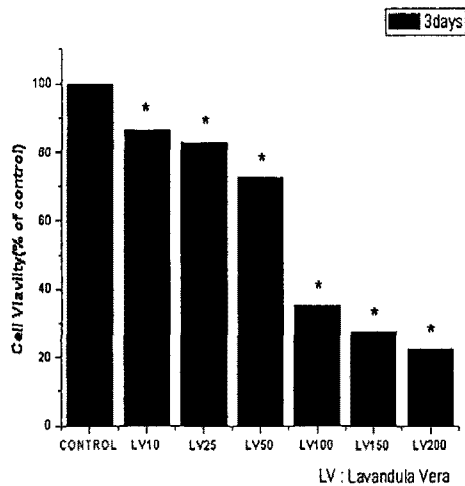


Fig. 1. The effect of *Lavandula vera* on the cell viability of SZ95 cell. Cells were plated at 3×10^4 cells/well and incubated in media containing 10 $\mu\text{g/ml}$ to 200 $\mu\text{g/ml}$ of *Lavandula vera* for 3 days. Data are means \pm S.D. of three experiments performed in triplicate. * $p < 0.01$; compared with control.

세포의 형태학적 변화를 대조군과 비교하여 관찰한 결과 라벤더에탄올추출물 처리군에서 세포의 수는 약간 감소하였으나, 형태학적 변화는 나타나지 않았다(Fig. 2).

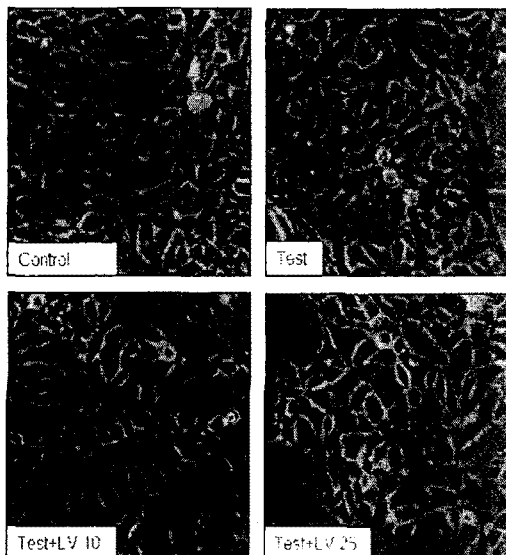


Fig. 2. Light micrographical observation of SZ95 cells after treatment with *Lavandula vera*. Cells were incubated with *Lavandula vera*. After 5 days, cells were photographed with phase contrast inverted microscope. Test: Testosterone 10^{-6}M , Test+LV 10: Testosterone 10^{-6}M + *Lavandula vera* 10 $\mu\text{g/ml}$, Test+LV 25: Testosterone 10^{-6}M + *Lavandula vera* 25 $\mu\text{g/ml}$. ($\times 100$)

2. Lipid 합성에 미치는 영향

라벤더에탄올추출물이 SZ95세포의 lipid 합성에 미치는 영향을 조사하기 위해 Oil red 염색으로 세포내 지방소적(lipid droplets)의 변화를 관찰하였다.

SZ95세포는 피지를 생성하여 분비하는 피지선세포주로서 본 실험에서 Oil red 염색 결과 세포내에 많은 지방소적이 관찰되었고, 지방소적의 생성을 비교하기 위하여 실시한 각질형성세포(HaCaT cell)에서는 지방소적은 관찰되지 않았다(data not shown). 라벤더에탄올추출물을 SZ95세포에 각각 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 와 25 $\mu\text{g/ml}$ 농도로 처리한 다음 5일간 배양하고 관찰한 결과 정상 SZ95세포에 비해 농도에 비례하여 세포내 지방소적(lipid droplets)이 약간 감소함을 관찰할 수 있었다(Fig. 3).

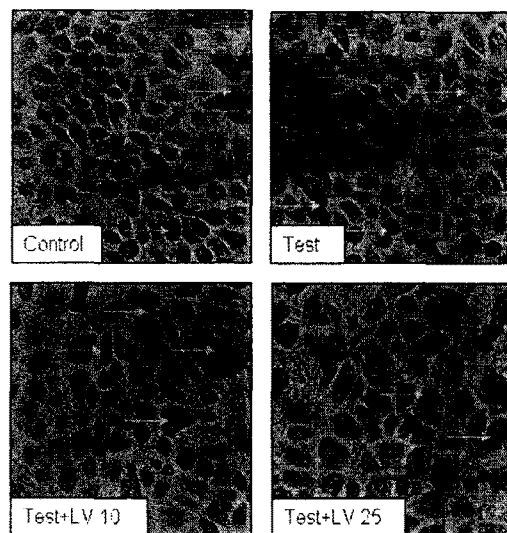


Fig. 3. The effect of *Lavandula vera* on cytoplasmic lipid droplets formation. SZ95 cells were treated with *Lavandula vera* for 5 days. Cytoplasmic lipid droplets were stained with Oil Red dye as described in Materials and Methods.

Test: testosterone 10^{-6} M, Test+LV10: testosterone 10^{-6} M + Lavandula vera 10 μ g/ml, Test+LV25: testosterone 10^{-6} M + Lavandula vera 25 μ g/ml. ($\times 400$)

IV. 考 察

여드름의 한의학적 원인으로 巢¹³⁾는 면상(面上)에 풍열기(風熱氣)로 인하여 면포(面胞)가 생긴다고 하였고, 陳¹⁴⁾은 혈열(血熱)이 울체(鬱滯)되어 부산(不散)한 소치라고 하였으며, 吳¹⁵⁾는 폐경(肺經)의 혈열(血熱)이 성(盛)해서 생긴다고 하였다. 또한 龔¹⁶⁾은 상초(上焦)의 폐화(肺火)에 의해 창(瘡)이 생긴다고 하였고, 許¹⁷⁾는 비폐풍습상박(脾肺風濕相搏)으로 생창(生瘡)하거나 면부(面部)에 열독(熱毒)으로 인해 생긴다고 하였으며, 王¹⁸⁾은 신탈후미(辛辣厚味)를 과식하여 습열(濕熱)이 장내(腸內)에 쌓여 내려가지 못하고 상역(上逆)하여 피부(肌膚)에 조체(阻滯)되어 생긴다고 하였다. 이외에 여드름의 원인으로 습열협담(濕熱挾痰)¹⁹⁾, 어혈(瘀血)^{20,21)} 등이 언급되어 있으나, 크게 분류해 보면 폐경풍열(肺經風熱), 비위습열(脾胃濕熱) 두 가지로 나눌 수 있다²²⁾.

이러한 여드름은 청폐위(淸肺胃)·청열해독(淸熱解毒), 청열량혈(淸熱涼血), 청열자음(淸熱滋陰), 건비화담이습(健脾化痰利濕), 활혈거어(活血祛瘀)하는 방법을 위주로 하여 청상방풍탕(淸上防風湯²³⁻²⁵⁾, 승마황련탕(升麻黃連湯^{17,26,27)}, 도홍사물탕(桃紅四物湯^{28,29)} 비파청폐음(枇杷淸肺飲)²⁸⁻³⁰⁾ 청위산(淸胃散)^{28,31)} 조위승기탕(調胃升氣湯), 오미소독음(五味消毒飲)²⁹⁾, 황련청폐음(黃芩淸肺飲)³²⁾, 인진호탕(茵陳蒿湯)³³⁾ 등의 내복약과 전도산(顛倒散)^{29,32-33)}, 서시옥용산(西施玉容散)³⁴⁾ 등의 외용약이 사용되었다.

여드름은 모낭피지선의 만성 염증성 질환의 하나인 심상성 좌창(尋常性 痤瘡)으로 대개 사춘기 전, 후에 발생하기 시작하여 성인기까지 지속되며, 모피지선 단위가 가장 밀집되어 있는 얼굴, 가슴 등에 호발한다. 여드름의 정확한 원인은 알려져 있지 않지만, 여드름을 일으키는 주요 인자로 남성호르몬에 의한 피지 분비항진, 모낭개구부의 각화와 피지의 배출지연, 세균성 리파아제에 의한 피지성분 중의 중성지방의 가수분해로 생긴 유리지방산의 모낭벽 자극, 세균에서 분비되는 화

학적 물질에 의한 모낭주위 염증, 유전적 소인 등을 들 수 있다. 최근에는 화장품 성분, 부신피질 호르몬제, 직업으로 인한 기름왁스의 사용, 비누나 세제의 과도한 사용, 강한 자외선 등의 환경요인과 모낭 내에 상주하는 propionibacterium acne 균 등이 여드름을 일으키는 것으로 알려졌다³⁵⁻³⁸⁾.

특히 피지선의 발달과 피지의 생성 및 분비는 여러 가지 호르몬의 영향을 받는데, 생식선이나 부신에서 분비되는 안드로젠(androgen)의 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 남성호르몬 중 피부의 모낭에 작용하는 대표적인 호르몬은 부신에서 생성되는 DHEA와 DHEA-S가 있고, DHEA-S는 피부, 지방, 근육 등 표적기관으로 이동한 후 DHEA, androstenedione, testosterone으로 전환되며 testosterone은 5 α -reductase에 의해 보다 강력한 DHT로 변환된다³⁹⁻⁴¹⁾. 또한 De Raeve(1995) 등⁴²⁾은 사춘기 전에 처음 발생한 조발성(早發性) 여드름 환자에 있어 부신 분비성 남성호르몬의 과다가 중요한 병인이라고 제시하였다.

본 연구는 Androgen에 의해서 항진된 SZ95세포의 활성을 조사하고 라벤더에탄올추출물이 Androgen에 의해 항진된 SZ95세포의 활성에 미치는 영향을 조사하였다. 본 연구에서 사람의 피지선 세포주인 SZ95세포는 피지선세포의 일차적인 특징인 세포내 지방소적을 많이 함유하고 있었으며, testosterone에 의해 지방소적이 현저히 증가하였다.

피지선에 미치는 androgen의 영향에 대한 연구로는 Strauss등(1962)이 methyltestosterone 경구투여 후 피지분비가 증가하고 피지선의 크기가 커지는 것을 보고하였고⁴³⁾, pochi 등(1963)은 DHEA이 피지분비를 증가시킴을 보고한 바 있으며⁴⁴⁾, De Raeve(1995)등⁴²⁾은 조발성 여드름 환자에 있어 부신 분비성 남성 호르몬의 과다를 중요한 병인이라고 제시하였다.

따라서 본 연구에서 androgen이 항진된 상태에서 라벤더에탄올추출물의 효과를 분석한 결과 Testosterone 처리군은 대조군에 비하여 지방소적(lipid droplets)이 약 2배 이상 증가되었으나, Testosterone과 라벤더에탄올추출물 병용처리군에서 지방소적이 유의하게 감소하는 것을 관찰할 수 있었다. 특히 Testosterone과 라벤더에탄올추출물 25 μ g/ml 농도로 병용처리한 군에서는 대조

군 수준으로 감소하였다.

이상의 결과, 정상 피지선세포의 특징을 지니고 있는 SZ95피지선 세포주는 향후 피지선의 생리적 기능과 분화를 연구하는 좋은 모델이 될 수 있을 것이며, 라벤더에탄올추출물은 안드로젠(androgen)에 의한 피지선세포의 기능이 항진된 상태에서 유의하게 항안드로젠(anti-androgen) 효과를 나타냈다. 따라서 라벤더에탄올추출물은 여드름 치료제로서 가능성을 가지며 향후 지속적인 연구가 필요하다고 사료된다. 그리고 향후 지속적인 연구는 피지의 생성 및 분비를 관찰 할 수 있는 다양한 실험적 방법이 필요하다고 생각 된다.

V. 結 論

라벤더에탄올 추출물의 피지생성 억제 효과를 알아보기 위하여 인체 피지선세포주의 지질합성에 미치는 영향을 조사하였다.

라벤더에탄올추출물은 세포생존율은 농도 의존적으로 감소하였으나 세포의 형태학적 변화는 없었으며 라벤더에탄올추출물은 testosterone에 의해 증가된 지방소적의 형성을 현저히 억제하였다. 또한 라벤더에탄올추출물은 안드로젠에 의한 피지선세포의 기능이 항진된 상태에서 유의하게 항안드로젠 효과를 나타내었다. 이상의 결과 라벤더에탄올추출물은 anti-androgenic 효과를 나타내어 여드름 치료제로서 향후 지속적인 다양한 방법의 연구가 필요할 것으로 사료된다.

參 考 文 獻

- 1) 황미서 : 아로마를 이용한 마사지 테크닉, 도서출판 예신, 2000.
- 2) 한의자연요법학회, 향기요법, 진영인쇄, 1996
- 3) Anderson C, Balchin ML, Smith MK : Evaluation of massage with essential oils on childhood atopic eczema. *Phytother. Res.* 14:452-456. 2000.
- 4) Kim HM, Cho SH : Lavender Oil inhibits Immediate-type Allergic Reaction in Mice and Rats. *J. Pharmacol.* 51:221-226. 1999.
- 5) 대한피부과학회 간행위원회: 피부과학, 서울, 여문각, p.383, 1994.
- 6) Nicolaidis N : Human skin surface lipids—origin, composition and possible function, in Montagna W, Ellis RA, Silver AF(eds) : *The Sebaceous glands, Advances in Biology of Skin.* Vol. 4, Pergamon Press, London, 1963, pp 167-187.
- 7) 홍석훈 : 淸上防風湯加味가 면포에 미치는 실험적 연구. 대전대학교 대학원 석사논문. 1998.
- 8) 서형식 : 升麻胃風湯加味가 면포에 미치는 실험적 연구. 대전대학교 대학원 석사논문. 1998.
- 9) 김성범, 김정준 : 連翹敗毒散加味方이 염증상태의 면포에 미치는 영향, 대한안이비인후부과학회지, 15(1):50-62, 2001.
- 10) 두인선, 서윤정, 우원홍, 오한철, 박민철, 황충연, 임규상, 김남권 : 5% 魚腥草 추출물 수용액의 외용요법이 여드름에 미치는 임상적 연구. 동의생리병리학회지 18(2):612-620, 2004.
- 11) 문연자, 김윤석, 권강주, 이희섭, 노성택, 김양진, 이장천, 우원홍 : 피지선세포에서 Retinoic Acid의 피지생성억제효과. 동의생리병리학회지 18(5): 1317-1321, 2004.
- 12) Mosmann T : Rapid colorimetric assay for the cellular growth and survival : application to proliferation and cytotoxic assay. *J. Immun. Method.* 65:55, 1983.
- 13) 巢元方 : 諸病源候論, 臺中, 昭仁出版社, pp.10-11, 1958.
- 14) 陳實功 : 外科正宗, 上海, 上海科學技術出版社, p.289, 1989.
- 15) 吳謙, 王炳, 錢斗保, 陳止敬, 劉裕鐸 : 醫宗金鑑(下), 서울, 대성문화사, p.207, 1991.
- 16) 龔廷賢 : 萬病回春, 北京, 人民衛生出版社, p.265, 1988.
- 17) 許俊 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, pp.209, 239, 284, 1976.
- 18) 王肯堂 : 六科準繩(외과), 서울, 대성문화사, pp.237-239, 1982.
- 19) 顧伯康 : 中醫外科學, 人民衛生出版社, 北京, pp.305-307, 1987.
- 20) 上海中醫學院 : 中醫學基礎, 香港, 商務印書

- 官, p.43, 1979.
- 21) 瘀血綜合科學研究會 : 瘀血研究, 東京, p.17, 23, 1982.
 - 22) 徐宜厚, 王保方 : 皮膚病中醫診療學, 北京, 人民衛生出版社, pp.104-108, 1997.
 - 23) 龔信纂 외 : 古今醫鑑, 南昌, 江西科學技術出版社, pp.233-234, 1990.
 - 24) 龔延賢 : 壽世保元, 北京, 人民衛生出版社, pp.421-422, 1996.
 - 25) 沈金鰲 : 雜病源流犀燭, 北京, 中國中醫藥出版社, p.346, 1994.
 - 26) 樓英 : 醫學綱目 卷二十, 臺南, 北一出版社, pp.4-5, 17, 1984.
 - 27) 羅天益 : 衛生寶鑑, 香港, 商務印書館, pp.126-127.
 - 28) 申天浩 : 病症診治, 서울, 成輔社, pp.592-594, 1990.
 - 29) 中醫研究院 : 中醫症狀鑑別診斷學, 北京, 人民衛生出版社, pp.656- 657, 1981.
 - 30) 顧伯華 외 : 實用中醫外科學, 上海, 上海科學技術出版社, pp.535- 536, 1985.
 - 31) 蔡炳允 : 漢方外科學, 서울, 高文社, pp.90-91, 1975.
 - 32) 李用粹 : 證治彙補, 臺北, 文光圖書有限公司, p.217, 1979.
 - 33) 陳實功 : 外科正宗, 北京, 人民衛生出版社, p.255, 1964.
 - 34) 朴炳昆 : 增補 漢方臨床四十年, 서울, 大光文化社, pp.460-461, 1971.
 - 35) Gollnick H, Zouboulis CC, Akamatsu H, Kurokawa I, Schulte A : Pathogenesis and pathogenesis related treatment of acne, J Dermatol 18: 489-499, 1991.
 - 36) Burton JL, Shuster S : The relationship between seborrhea and acne vulgaris, Br. J. Dermatol. 1971;84:600-602, 1971.
 - 37) 李惟信 : 임상피부과학, 서울, 여문각, pp.217-224, 1987.
 - 38) 안성구, 이승한, 박윤기 : 흔히 보는 피부질환, 서울: 고려의학. pp.59-71, 1993.
 - 39) Darley CR, Moore JW, Besser GM, Munro DD, Edwards CR, Rees LH, Kirby JD : Androgen status in women with late onset or persistent acne vulgaris, Clin Exp Dermatol 9:28-35, 1984.
 - 40) Schmidt JB, Spona J : Hormone receptors in normal skin and acne, Endocrinol Exp 17:137-144, 1983.
 - 41) Sperling LC, Heimer WL : Androgen biology as a basis for the diagnosis and treatment of androgenic disorders in women. I, J Am Acad Dermatol 28(6):901-916, 1993.
 - 42) De Raeve L, De Schepper J, Smits J : Prepubertal acne : A cutaneous marker of androgen excess? J Am Acad Dermatol 32:181-184, 1995.
 - 43) Strauss J.S., Kligman, A.M., Pochi, P.E The effect of androgen and estrogen on human sebaceous glands. J Invest Dermatol 39:139-155, 1962
 - 44) Pochi, P.E., Strauss J.S., Mescon, H. The role of adrenocortical steroids in the control of human sebaceous gland. J Invest Dermatol 41:391-399, 1963.