

명세서

발명의 명칭: 피부 상태 개선용 조성물

기술분야

- [1] 본 출원은 락토바실러스 플란타룸 CJLP55 또는 이의 배양액을 포함하는 피부 상태 개선용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 피부 건강을 개선하고 피부의 아름다움을 가꾸기 위하여, 피부 표면에 바르는 화장품 등을 이용한 이른바 아우터 뷰티(outer beauty)에만 초점을 맞추던 기존의 인식에 더하여, 최근에는 다양한 소재 및 제품의 섭취에 의한 이너 뷰티(inner beauty)에 대한 관심이 높아지고 있다. 피부 표면에서 발생하는 여드름, 피부염 등의 피부트러블은 피지 분비의 증가, 모낭 과다각질화, 피부유해균의 집락 형성, 염증 발생 등에 의해 유발되는 것으로 알려져 있는데, 이러한 피부트러블의 근본적인 원인 해결과 관련하여, 위장관계와 피부 사이의 상관관계에 대한 이론인 '장-피부 축(gut-skin axis)'에 대한 연구도 진행되어 오고 있다.
- [3] 한편, 다양한 발효식품에서 발견되며 건강에 유익한 미생물로 알려진 유산균을 피부 건강의 개선을 위한 목적에서 이용하고자 하는 시도와 연구가 있었다. 유산균의 배양액이나 이를 포함하는 조성물을 피부에 도포하는 등의 방법으로 적용하여 화장료로 이용하였을 때, 피부에 서식하는 유해균에 대해 항균 활성을 가진다는 점이나 피부의 주름, 노화가 개선되는 효과가 있다는 점에 대한 연구 결과는 있었다. 그러나, 유산균을 피부에 직접 적용하지 않고 이를 섭취하였을 때 피부 상태에 미치는 영향에 대해서는 알려진 바가 없으며 연구가 진행된 바 없다.
- [4] 이에, 본 출원의 발명자는 프로바이오틱스로 기능할 수 있어 건강에 도움이 되면서도, 나아가 피부의 상태를 개선하는 효능이 있으며 다른 균주에 비해 피부유해균의 생육 저해를 더욱 현저하게 나타낼 수 있는, 유산균 균주의 새로운 효과와 용도를 밝혀냄에 따라 본 출원의 발명을 완성하였다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [5] 본 출원은 여드름과 같은 피부 트러블의 발생과 진행을 억제하고, 피부의 유분은 감소시키면서 보습을 유지할 수 있는 피부 상태 개선용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제 해결 수단

- [6] 본 출원은, 상기의 목적을 달성하기 위하여, 락토바실러스 플란타룸 CJLP55(*Lactobacillus plantarum* CJLP55) 또는 이의 배양액을 포함하는, 피부 상태 개선용 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [7] 본 출원의 피부 상태 개선용 조성물은, 프로피오니박테리움 속과 같은 피부 유해균에 대한 생육 억제 효과를 바탕으로 여드름의 중증도를 개선시키고, 피부의 유분, 피지를 감소시키고 수분의 양을 유지시키며 피부의 산도를 개선함으로써, 피부의 상태를 개선할 수 있고 피부 트러블의 발생과 진행을 억제할 수 있는 장점이 있다.
- [8] 다만, 본 출원의 효과는 상기에서 언급한 효과로 제한되지 아니하며, 언급되지 않은 또 다른 효과들은 하기의 기재로부터 당업자에게 명확히 이해될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

- [9] 도 1a 및 도 1b는 인체적용시험에서 유산균(락토바실러스 플란타룸 CJLP55) 섭취군과 위약군의 대상자에게 각 식품을 12주간 섭취시킨 후 측정된 유분이 개선된 대상자의 수를 비교한 것으로, 도 1a는 유분이 30% 이상 개선된 대상자 수, 도 1b는 유분이 50% 이상 개선된 대상자 수를 비교한 그래프이다. 각 그래프에서 왼쪽은 ITT, 오른쪽은 PP 분석 결과를 의미한다.
- [10] 도 2는 인체적용시험에서, 피부 균총의 염기서열을 분석하여 ITT(도 2의 A) 및 PP(도 2의 B) 분석 결과를 프로피오니박테리움(*Propionibacterium*) 속 미생물의 각 종(species) 비율을 나타낸 그래프이다. 두 그래프에서 모두, *P. acnes*는 94%, *P. unassigned*는 5%, *P. granulosum*은 1%로 나타났다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [11] 이하, 본 출원을 구체적으로 설명한다.
- [12]
- [13] 본 출원은 락토바실러스 플란타룸 CJLP55(*Lactobacillus plantarum* CJLP55) 또는 이의 배양액을 포함하는, 피부 상태 개선용 조성물을 제공한다.
- [14] 본 출원에서 용어 "배양액"은 균주를 배양하여 수득된 배양액 자체, 또는 이로부터 균주를 제거하여 수득된 배양 상층액, 그리고 이들의 여과물, 농축물 또는 건조물을 의미하는 것으로, "배양 상층액", "조건 배양액" 또는 "조정 배지"와 혼용되어서 사용될 수 있다.
- [15] 본 출원에서 용어 "개선"은 증세의 호전, 억제, 또는 지연을 포함하는 모든 행위를 의미하는 것으로, 예방 또는 치료와 혼용되어서 사용될 수 있다.
- [16] 상기 예방은 조성물을 대상체에 투여하여 해당 질병을 억제시키거나 발병을 지연시키는 모든 행위일 수 있고, 상기 치료는 조성물을 대상체에 투여하여 기감염된 해당 질병의 증세를 호전시키는 모든 행위일 수 있다.
- [17] 본 출원에서 용어 "피부 상태 개선"은 미용적 측면, 또는 의학적 측면에 관계 없이 피부 상태를 개선하는 모든 행위를 의미하는 것으로, 피부 건강 개선 또는 파민피부 상태 개선과 혼용되어 사용될 수 있다.
- [18] 상기 락토바실러스 플란타룸 CJLP55는 유산균의 일종으로, 그람양성균이며

호기적/혐기적 조건에서 모두 성장이 가능한 특징이 있다. 구체적으로, 수탁번호 KCTC 11401BP(기탁기관: 생명공학연구원 유전자은행, 기탁일: 2008.10.16)로 기탁된 미생물일 수 있고, 예컨대 김치, 채소 발효물, 된장, 간장, 청국장, 젓갈 등의 발효식품으로부터 분리될 수 있다. 상기 락토바실러스 플란타룸 CJLP55는 위산에 대한 내산성, 담즙산에 대한 내담즙산성, 및 장상피세포 부착성이 우수한 특성이 있는바, 사람을 포함한 동물의 위장관 내에서 장내 균총에 유익한 영향을 미칠 수 있어 프로바이오틱스(probiotics)로 이용될 수 있다.

- [19] 상기 배양액은 상기 락토바실러스 플란타룸 CJLP55를 배양하여 수득되는 것으로, 상기 유산균 세포를 포함하는 배양액 자체이거나, 또는 이로부터 유산균 세포를 제거하여 수득된 배양 상층액일 수 있으며, 또한 이들의 여과물, 농축물 또는 건조물일 수 있다. 상기 유산균 세포가 제거된 배양액은 락토바실러스 플란타룸 CJLP55에 의해 생산, 분비되는 성분을 포함하며 이에 따라 피부 상태 개선 활성을 갖는 것일 수 있다.
- [20] 상기 여과물은 락토바실러스 플란타룸 CJLP55의 배양액으로부터 부유하는 고체 입자를 제거하여 침전물을 제외한 수용성의 상등액만을 얻는 것으로, 먼, 나일론 등의 필터, 예컨대 0.2 μm 내지 5 μm 의 필터를 이용하여 입자를 걸러내거나 냉동여과법, 원심분리법 등을 사용할 수 있으나 이에 제한되지 않는다.
- [21] 상기 농축물은 상기 배양액의 고형분 농도를 높이는 것으로, 상기 유산균 세포를 포함하는 배양액의 농축물이거나 유산균 세포를 제거한 배양 상층액의 농축물일 수 있다. 상기 농축물은 진공농축, 판형농축, 박막농축 등에 의해 농축된 것일 수 있으나 이에 제한되지 않으며, 예컨대 공지의 농축기를 이용하여 40 $^{\circ}\text{C}$ 내지 60 $^{\circ}\text{C}$ 의 온도에서 수행할 수 있다. 상기 농축물의 농도에 따라 본 출원의 조성물에 포함되는 배양액의 함량을 적절히 조절할 수 있다.
- [22] 상기 건조물은 동결건조, 진공건조, 열풍건조, 분무건조, 감압건조, 분무건조, 포말건조, 고주파건조, 적외선건조 등의 방법을 통해 건조된 것을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 예를 들어, 락토바실러스 플란타룸 CJLP55 세포를 포함하는 배양액을 동결건조시킨 동결건조물을 이용할 경우, 이를 포함하는 조성물을 경구 섭취하거나 제형화, 포장, 보관하는 등에 있어 유리한 장점이 있으며, 상기 균주를 장기간 보존할 수 있는바 본 출원의 조성물이 투여된 대상체 내, 특히 장내에서 동결건조되었던 상기 균주가 다시 정상적인 생리적 활성을 나타내며 성장 및 물질대사를 수행할 수 있는 장점이 있다.
- [23] 상기 락토바실러스 플란타룸 CJLP55 또는 이의 배양액은 본 출원의 조성물 내에 3 중량% 내지 15 중량%의 함량으로 포함될 수 있다. 구체적으로, 상기 락토바실러스 플란타룸 CJLP55 또는 이의 배양액은 3 중량%, 3.5 중량%, 4 중량%, 4.5 중량%, 5 중량%, 5.5 중량%, 6 중량%, 6.5 중량%, 및 7 중량%로부터 선택된 하나의 하한 및/또는 15 중량%, 14 중량%, 13 중량%, 12 중량%, 11 중량%, 10.5 중량%, 10 중량%, 9.5 중량%, 및 9 중량%로부터 선택된 하나의 상한으로

구성된 범위의 함량으로 포함될 수 있다. 일례로, 3 내지 15 중량%, 3.5 내지 14 중량%, 4 내지 13 중량%, 4.5 내지 12 중량%, 5 내지 11 중량%, 5.5 내지 10.5 중량%, 6 내지 10 중량%, 6.5 내지 9.5 중량%, 또는 7 내지 9 중량%의 함량일 수 있다. 락토바실러스 플란타룸 CJLP55 또는 이의 배양액의 함량이 상기 범위 내일 경우, 섭취 시 장 내에서 유익한 유산균의 증식, 유해균의 억제, 배변활동 원활 등의 기능을 할 수 있고 피부 상태의 개선 효과를 충분히 개선할 수 있으면서도, 본 출원의 조성물을 섭취하고자 할 때 맛과 향의 측면에서 거부감을 느끼지 않을 수 있다.

- [24] 상기 조성물은 말토덱스트린 및 포도당을 더 포함할 수 있다. 상기 말토덱스트린 및 포도당은 부형제로 포함되는 것일 수 있다. 상기 조성물은 본 출원의 조성물에 포함된 락토바실러스 플란타룸 CJLP55 또는 이의 배양액에 의한 피부 상태 개선 효과를 저해하지 않는 것이라면, 본 출원의 기술분야에서 통상적으로 부형제로 사용될 수 있는 어떠한 성분이라도 제한없이 포함될 수 있다. 상기 말토덱스트린 및 포도당은 본 출원의 조성물에 포함됨에 따라 이를 섭취하는 사람의 표피세포 및/또는 피지선에서 유리지방산의 분비를 억제하는 효과를 나타낼 수 있다. 상기 말토덱스트린 및 포도당의 함량은 상기 락토바실러스 플란타룸 CJLP55 또는 이의 배양액에 의한 피부 상태 개선 효과를 저해하지 않는 수준에서 제한없이 설정될 수 있으며, 예컨대 상기 말토덱스트린은 본 출원의 조성물 내에 상기 포도당과 동량으로 포함될 수 있다.
- [25] 본 출원의 조성물은 경구 투여용일 수 있다. 상기 "경구 투여용"은, 본 출원의 조성물이 사람 또는 동물의 구강을 통해 투여/섭취되도록 이용되는 것을 의미하며, 이에 따라 본 출원의 조성물은 의약품 또는 식품의 형태로 이용될 수 있다. 상기 조성물이 경구 투여될 경우, 이에 포함된 락토바실러스 플란타룸 CJLP55는 사람 또는 동물의 위장관 내에서 프로바이오틱스로 기능할 수 있으며, 또한 피부에도 영향을 주어 피부의 상태를 개선할 수 있는 효과를 나타낼 수 있다.
- [26] 상기 피부 상태 개선은, 피지 억제, 피지 성분 개선, 및 여드름의 개선, 및 피부염 개선으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있다. 본 출원의 조성물은 피지의 양을 감소시키거나 분비를 감소시켜 피지를 억제할 수 있다. 또한, 피지 내의 성분 중 피부 트러블을 유발할 수 있는 성분, 예컨대 중성지방, 콜레스테롤, 콜레스테롤 에스테르, 유리지방산 등의 함량을 감소시키거나, 피지 내의 성분 중 피부 보습 유지 효과를 나타내는 등 피부 상태를 개선할 수 있는 성분, 예컨대 세라마이드 등의 함량을 증가시킴으로써, 피지 성분을 개선할 수 있다. 상기 여드름의 개선은, 결절(nodule), 구진(papule), 농포(pustule), 먼포(comedone)의 감소, 여드름의 중증도 감소일 수 있다. 그리고, 본 출원의 조성물은 피지의 분비를 억제하여 피지의 양을 감소시키고 피지 내의 성분을 개선시킴에 따라, 피지에 의해 유발될 수 있는 피부염을 개선할 수 있다.
- [27] 상기 조성물은 피지 내 중성지방, 콜레스테롤, 콜레스테롤 에스테르 및 유리

지방산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상을 감소시키거나, 세라마이드를 증가시키는 것일 수 있다. 상기 중성지방은 피지선에서 분비되는 것일 수 있고, 상기 콜레스테롤, 콜레스테롤 에스테르 및 유리지방산은 피지선 및 표피에서 모두 분비되는 것일 수 있다. 상기 세라마이드는 세라마이드 1 내지 7일 수 있고, 구체적으로 세라마이드 2일 수 있으며, 상기 세라마이드 2의 증가에 따라 피부의 보습 개선 효과가 나타날 수 있다.

- [28] 상기 조성물은 피부의 유분을 감소시키고 피부의 수분을 증가시킬 수 있다. 구체적으로, 본 출원의 조성물은 피부 표면의 유분(예를 들어, 중성지방, 콜레스테롤, 콜레스테롤 에스테르, 유리지방산 등)의 양을 감소시키거나 피지의 양을 감소시킬 수 있다. 또한, 상기 조성물은 피부의 수분의 양을 증가시키거나, 수분이 감소되는 것을 저해함으로써 수분의 양을 유지할 수 있어 피부의 보습 효과를 나타낼 수 있다.
- [29] 상기 조성물은 피부의 산도를 개선할 수 있다. 상기 산도의 개선은 피부의 pH를 감소시키는 것, 또는 피부의 pH 증가를 저해하는 것을 의미한다. 피부의 산도는 피부 건강을 나타내는 주요한 지표로 이용될 수 있으며, 건강한 피부는 일반적으로 pH 4 내지 pH 6의 약산성의 산도를 유지하는 것에 반해, 아토피 피부염, 여드름 등 피부 질환의 발생 시 피부의 pH가 증가될 수 있는바, pH를 감소시킬 경우 피부 상태를 개선할 수 있다. 피부의 산도는 표피에서 생성되는 젖산, 유리아미노산, 유리지방산 등의 전체 함량에 의해 결정될 수 있으며, 상기 조성물은 피부의 젖산 함량을 증가시키는 것일 수 있다.
- [30] 상기 조성물은 프로피오니박테리움(*Propionibacterium*) 속(큐티박테리움 속, *Cutibacterium*) 또는 스태필로코커스(*Staphylococcus*) 속 미생물에 대한 항균 활성을 갖는 것일 수 있다. 상기 프로피오니박테리움 속 또는 스태필로코커스 속 미생물은 여드름 및/또는 피부염과 같은 피부 질환을 유발하는 것일 수 있다. 본 출원의 조성물은 상기 미생물의 성장, 생육을 저해함에 따라 항균 활성을 가질 수 있으며, 상기 미생물의 수를 감소시키거나 미생물의 수가 증가하는 것을 저해하는 것일 수 있다. 예컨대 상기 조성물은 피부 표면에 분포하는 상기 미생물에 대해 항균 활성을 가질 수 있으며, 이에 따라 상기 미생물에 의해 유발되는 피부 질환을 예방, 치료, 개선할 수 있다.
- [31] 상기 프로피오니박테리움 속 미생물은 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*, 또는 큐티박테리움 아크네스, *Cutibacterium acnes*)일 수 있다. 상기 프로피오니박테리움 아크네스는 여드름 또는 피부염을 유발할 수 있는 피부유해균으로, 피지선으로부터 분비되는 지방산을 이용하여 성장할 수 있다. 본 출원의 조성물은 상기 프로피오니박테리움 아크네스의 성장, 생육을 저해함에 따라 항균 활성을 가질 수 있으며, 이에 따라 상기 프로피오니박테리움 아크네스에 의해 유발되는 피부 질환을 예방, 치료, 개선할 수 있다.
- [32]
- [33] 본 출원의 조성물은, 상기 피부 상태의 개선을 위한 목적에서, 식품 조성물 또는

약학적 조성물로 이용될 수 있다.

- [34] 본 출원의 조성물이 식품 조성물로 이용되는 경우, 상기 식품의 종류는 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 김류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올음료, 비타민 복합제, 기능성 식품, 건강기능식품 등이 있고, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함하며, 예컨대 식품의 가공, 조리 과정 등에서 상기 조성물에 포함된 유효성분인 락토바실러스 플란타룸 CJLP55 또는 이의 배양액이 파괴되거나 기능을 상실하지 않는 것일 수 있다.
- [35] 상기 건강기능식품은 피지나 유분을 감소시키고 보습을 유지하며 피부유해균에 대한 항균 활성을 가짐으로써, 여드름 및/또는 피부염을 예방/개선하거나 피부 상태를 개선할 수 있는 것이다. 피부 상태 개선 효과가 있는 락토바실러스 플란타룸 CJLP55 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 건강기능식품은 여드름 및/또는 피부염의 예방 또는 개선, 피부 상태의 개선에 유용하게 사용될 수 있다.
- [36] 상기 건강기능식품은 영양 공급 이외에도 생체조절기능이 효율적으로 나타나도록 가공된 의학, 의료 효과가 높은 식품으로, 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 수 있다. 상기 건강기능식품은 본 출원의 기술분야에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조할 수 있으며, 당업계에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한 상기 건강기능식품의 제형도 건강기능식품으로 인정되는 제형이면 제한 없이 다양한 형태의 제형으로 제조될 수 있으며, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있고 휴대성이 뛰어난 장점이 있어, 여드름 및/또는 피부염의 예방 또는 개선을 위하여 해당 질환의 발병 단계 이전 또는 발병 후, 치료를 위한 약제와 동시에 또는 별개로서 사용될 수 있다. 상기 건강기능식품은 일반식품에 비해 적극적인 건강유지나 증진 효과를 가지는 건강 식품(health food)과, 건강보조 목적의 건강보조식품(health supplement food)을 포함하며, 경우에 따라, 건강기능식품, 건강식품, 건강보조식품의 용어는 혼용될 수 있다.
- [37] 상기 건강기능식품에서, 유효성분(락토바실러스 플란타룸 CJLP55 또는 이의 배양액)을 식품에 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 상기 유효성분의 혼합량은 그의 사용 목적(여드름 및/또는 피부염의 예방 또는 개선용, 피부 상태의 개선용)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 상기 유효성분은 여드름 및/또는 피부염의 예방 또는 개선, 피부 상태의 개선 효과를 가지는 한 건강기능식품에 다양한 함량으로 포함될 수 있다. 그러나 건강 및 위생 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있다. 상기 건강기능식품은 상기 유효성분을

포함하는 것 외에 특별한 제한없이 다른 성분들을 필수 성분으로서 포함할 수 있다. 예를 들면, 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 포함할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당 알코올일 수 있다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어, 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등)) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 통상의 기술자의 선택에 의해 적절하게 결정될 수 있다.

- [38] 상기 건강기능식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 포함할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있으며, 이러한 첨가제의 비율 또한 통상의 기술자에 의해 적절히 선택될 수 있다.

[39]

- [40] 본 출원의 조성물이 약학적 조성물로 이용되는 경우, 상기 약학적 조성물은 여드름 및/또는 피부염의 예방 또는 개선용일 수 있다.

- [41] 상기 조성물은, 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분 1종 이상과 함께 투여될 수 있다. 투여를 위해서는 본 출원이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 추가로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함할 수 있다. 상기 '허용 가능한'의 의미는 유효성분(락토바실러스 플란타룸 CJLP55 또는 이의 배양액)의 활성을 억제하지 않으면서 적용(처방) 대상이 적응 가능한 이상의 독성을 지니지 않는다는 의미이다. 상기 '담체'는 세포 또는 조직 내로의 화합물의 부가를 용이하게 하는 화합물로 정의된다. 상기 조성물은 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기내에 내입시켜 제조될 수 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다. 또한, 상기 조성물이 포함하는 상기 유효성분은 콜로이드 현탁액, 분말, 식염수, 지질, 리포솜, 미소구체(microspheres), 또는 나노 구형입자와 같은 담체에 운반될 수 있다. 이들은 운반 수단과 복합체를 형성하거나 관련될 수 있고, 지질, 리포솜, 미세입자, 금, 나노입자, 폴리머, 축합 반응제, 다당류, 폴리아미노산, 텐드리머, 사포닌, 흡착 중진 물질 또는 지방산과 같은 본 출원이 속하는 기술분야에 공지된 운반 시스템을 사용하여 생체 내 운반될 수 있다. 이 외에도, 상기 담체는 제제시 통상적으로 이용되는 락토스, 텍스트로스, 슈크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아, 고무, 인산칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세 결정성 셀룰로스, 폴리비닐 피로리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스,

메틸히드록시벤조에이트, 프로필 히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다. 상기 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로스 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 이용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다.

- [42] 본 출원의 조성을 약학적으로 사용할 경우, 실제 임상 투여시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구 투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 생약 추출물 또는 생약 발효물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 상기 산제는 본 출원의 유효성분과 유당, 전분, 미결정셀룰로오스 등 약학적으로 허용가능한 적당한 담체를 단순 혼합함으로써 제조될 수 있다. 과립제는 본 출원의 상기 유효성분, 약학적으로 허용가능한 적당한 담체 및 폴리비닐피롤리돈, 히드록시프로필셀룰로오스 등의 약학적으로 허용가능한 적당한 결합제를 혼합한 후, 물, 에탄올, 이소프로판올 등의 용매를 이용한 습식과립법 또는 압축력을 이용한 건식과립법을 이용하여 제조될 수 있다. 또한 정제는 상기 과립제를 마그네슘스테아레이트 등의 약학적으로 허용가능한 적당한 활택제와 혼합한 후, 타정기를 이용하여 타정함으로써 제조될 수 있다. 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔, 마크로골, 트윈 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤, 젤라틴 등이 사용될 수 있다.

- [43] 본 출원의 조성을 약학적으로 사용할 경우, 상기 유효성분(락토바실러스 플란타룸 CJLP55 또는 이의 배양액)은 예방, 개선 또는 치료해야 할 질환 및 개체의 상태에 따라 경구제, 주사제(예를 들어, 근육주사, 복강주사, 정맥주사, 주입(infusion), 피하주사, 임플란트), 흡입제, 비강투여제, 질제, 직장투여제, 설하제, 트랜스더말제, 토피칼제 등으로 투여될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 투여 경로에 따라 통상적으로 사용되고 비독성인, 약학적으로 허용가능한 운반체, 첨가제, 비히클을 포함하는 적당한 투여 유닛 제형으로 제제화될

수 있다. 상기 투여시 유효성분인 락토바실러스 플란타룸 CJLP55의 양은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여 방법, 배설율, 목적 부위 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다. 상기 조성물 내의 상기 유효성분은 30 μ M 이상, 예컨대 32 μ M 이상, 35 μ M 이상, 37 μ M 이상 또는 40 μ M 이상의 농도로 포함될 수 있다. 또한, 상기 유효성분은 0.05 mg, 0.1 mg, 0.15 mg, 0.2 mg, 0.3 mg, 0.5 mg, 1 mg, 2 mg, 3 mg, 5 mg, 10 mg, 20 mg, 30 mg, 50 mg 및 100 mg로부터 선택된 하나의 하한선 및/또는 500 mg, 450 mg, 400 mg, 350 mg, 320 mg, 300 mg, 280 mg, 250 mg, 200 mg, 150 mg 및 100 mg로부터 선택된 하나의 상한선으로 구성된 범위의 양으로 함유될 수 있으며, 일례로, 0.05 내지 500 mg, 0.05 내지 450 mg, 0.05 내지 400 mg, 0.05 내지 350 mg, 0.05 내지 300 mg, 0.05 내지 250 mg, 0.1 내지 500 mg, 0.1 내지 450 mg, 0.1 내지 400 mg, 0.1 내지 350 mg, 0.1 내지 300 mg, 0.1 내지 250 mg, 0.1 내지 200 mg, 0.2 내지 500 mg, 0.2 내지 400 mg, 0.2 내지 300 mg, 0.5 내지 300 mg, 1 내지 300 mg, 5 내지 300 mg, 또는 10 내지 300 mg의 양으로 함유될 수 있다.

- [44] 또한, 상기 조성물을 약학적으로 사용하는 경우, 상기 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여될 수 있다. 본 출원에 있어서 '약학적으로 유효한 양'은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 환자의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 상기 유효 용량은 투여 개체의 몸무게 1kg 당 일반적으로 1일 0.01mg 내지 5000mg이며, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정 시간간격으로 1일 1회 내지 수회로 분할 투여할 수도 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 조성물은 개별 치료제로 투여하거나, 다른 오염물질에 의해 유발되는 질환의 치료제 또는 피부 노화 개선을 위한 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 동시에, 별도로, 또는 순차적으로 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소들을 모두 고려하여 부작용없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 통상의 기술자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 구체적으로 상기 조성물의 유효량은 환자의 연령, 성별, 상태, 체중, 체내에 활성 성분의 흡수도, 불활성율, 배설 속도, 질병 종류, 병용되는 약물에 따라 달라질 수 있으며, 투여 경로, 비만의 중증도, 성별, 체중, 연령 등에 따라 증감될 수 있으며, 치료하고 있는 상태의 심각성 등에 따라 다양할 수 있다. 필요에 따라 편리성을 위하여 1일 총 투여량을 하루 동안 여러 번 나누어 투여될 수 있다. 일례로 일일 투여량은 매일 약 0.0001 mg/kg 내지 약 10 g/kg으로, 예컨대 약 0.001 mg/kg 내지 약 1 g/kg의 양을 1일 1회 투여할 수 있다. 아울러, 투여 기간은 1일 내지 2개월일 수 있으나, 질환의 예방 또는 치료 효과가 나타날 때까지 제한 없이 투여될 수 있다. 또한, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정 시간 간격으로 1일 수회, 예컨대 하루 2회 내지 3회 분할 투여될 수 있다.

- [45]
- [46] 본 출원의 다른 일 양태는 락토바실러스 플란타룸 CJLP55(*Lactobacillus plantarum* CJLP55) 또는 이의 배양액을 포함하는 조성물을 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 피부 상태 개선 방법을 제공한다.
- [47] 상기 대상체는 제한 없이 포함될 수 있으나, 일례로 인간을 포함한 동물, 또는 인간을 포함하지 않는 동물일 수 있다. 상기 조성물을 투여하는 대상체의 피부 건강 상태가 정상적인 개체와 비교하여 부정적인 상태이거나 피부 질환을 가진 상태인 경우, 예컨대 피지의 증가, 여드름 또는 피부염 등의 상태인 경우, 상기 조성물을 투여함으로써 상기 피부 상태를 치료 또는 개선할 수 있다. 또한, 상기 조성물을 투여하는 대상체의 피부 건강 상태가 정상적인 경우, 상기 조성물을 투여함으로써 상기 대상체의 피부 상태가 부정적인 상태에 이르는 것 또는 피부 질환의 발병을 예방 또는 방지할 수 있다.
- [48] 상기 투여하는 것은, 상기 조성물을 대상체에 경구 투여하는 것일 수 있다. 상기 경구 투여에 관한 설명은 전술한 바와 동일하다.
- [49] 상기 대상체에 투여하는 단계 이전에 락토바실러스 플란타룸 CJLP55 또는 이의 배양액을 포함하는 조성물을 준비하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 조성물을 준비하는 단계는 락토바실러스 플란타룸 CJLP55 또는 이의 배양액을 유효성분으로 하여 담체, 부형제 등 다른 성분을 추가로 혼합하는 것일 수 있다. 상기 락토바실러스 플란타룸 CJLP55, 이의 배양액, 피부 상태 개선, 담체, 부형제, 다른 성분, 투여방법, 투여량 등에 관한 설명은 전술한 바와 같다.
- [50]
- [51] 이하, 본 출원을 실험예에 의하여 상세히 설명한다.
- [52] 단, 하기 실험예는 본 출원을 구체적으로 예시하는 것이며, 본 출원의 내용이 하기 실시예에 의해 한정되지 아니한다.
- [53]
- [54] **[실험예 1]**
- [55] 락토바실러스 플란타룸 CJLP55의 여드름 원인균(*P. acnes*)에 대한 생육 억제 효과 확인
- [56] 여드름과 같은 피부 트러블을 유발하는 원인균으로 알려진 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*, 또는 *Cutibacterium acnes* 이하 '*P. acnes*')에 대한 락토바실러스 플란타룸 CJLP55 균주의 생육 억제 효과를 확인하기 위하여, *P. acnes*의 배양매지에 여러 종류의 유산균을 함께 접종하여 *P. acnes*의 증식이 억제되는지 여부를 *in vitro* 상에서 확인하였다.
- [57] 락토바실러스 플란타룸 CJLP55 균주는 한국 등록특허공보 10-1255050 B1에서 개시된 균주로, 생명공학연구원 유전자 은행에 2008년 10월 16일 KCTC 11401BP으로 기탁된 균주를 이용하였다.
- [58] 유산균 균주로는 락토바실러스 플란타룸의 표준 균주 KCTC 3108를 이용하였고, *P. acnes*의 생육을 억제하는 활성이 공지(Mi-Sun Kang *et al.*, 2012,

The Journal of Microbiology, 50(1), 137-142)된 락토바실러스 루테리(*Lactobacillus rueteri*) KCTC 3594 및 본 출원의 락토바실러스 플란타룸 CJLP55 균주를 이용하였다. 여드름 유해균 *P. acnes*(수탁번호: KCTC 3314, 배양 배지: Reinforced Clostridial Medium, RCM 배지, 배양 온도: 37 °C)의 경우 혐기성 배양조에서 가스팩 시스템(AnaeroPack, MITSUBISHI GAS CHEMICAL)을 이용해 밀봉하여 혐기 조건으로 배양하였다.

[59] 상기 본 발명의 락토바실러스 플란타룸 CJLP55 균주, 그리고 표준 균주 락토바실러스 플란타룸 KCTC 3108 및 락토바실러스 루테리 KCTC 3594 균주를 MRS 배지(Difco 0881)에 1.0×10^7 CFU/ml만큼 점적하여 24시간 배양한 후, 0.8%의 agar가 포함된 RCM 배지에 상기 *P. acnes* 균주를 1.0×10^7 CFU/ml 접종시켜 오버레이시켰다. 24시간 동안 추가 배양한 이후, 각 실험 균주 및 대조균 균주의 균집 주변에서 *P. acnes* 균주의 성장이 억제됨에 따라 나타나는 억제환(clear zone)의 직경을 측정하였다.

[60] 그 결과, 하기 표 1에 나타난 바와 같이, 락토바실러스 루테리의 표준 균주의 균집에서는 억제환이 전혀 형성되지 않았으나, 락토바실러스 플란타룸의 표준 균주(KCTC 3108) 및 본 발명의 락토바실러스 플란타룸 CJLP55 균주의 균집에서는 억제환이 형성되었다. 이 때, 락토바실러스 플란타룸 CJLP55 균주의 균집 주변에 형성되는 억제환의 직경이, 표준 균주의 균집보다 더 큰 것으로 나타났다. 상기 억제환의 직경 크기는 해당 균집의 균주가 나타내는 항균 활성이 우수할 경우 더 크게 나타나므로, 본 발명의 락토바실러스 플란타룸 CJLP55 균주는 *P. acnes*의 성장을 억제하는 항균 활성을 나타내며, 일반적인 락토바실러스 플란타룸 표준 균주와 비교할 때 *P. acnes*에 대한 항균 활성이 더 우수한 것임을 확인할 수 있었다.

[61] [표1]

	억제환의 직경 (mm)
락토바실러스 루테리 표준균주(KCTC 3594)	-
락토바실러스 플란타룸 표준균주(KCTC 3108)	++
락토바실러스 플란타룸 CJLP55	+++

[62] (-: no inhibition zone, +: 10.0 mm 미만, ++: 10.0~20.0 mm, +++: 20.0 mm 초과)

[63] 상기와 같은 결과로 볼 때, 본 발명의 락토바실러스 플란타룸 CJLP55 균주의 경우, 종래 여드름 유해균의 활성을 어느 정도 억제할 수 있는 것으로 알려졌던 다른 유산균 균주들보다 *P. acnes*의 성장을 억제하는 활성이 더 우수하게 나타나고, 특히 락토바실러스 플란타룸의 표준 균주인 KCTC 3108과 비교할 때에도 여드름 유해균의 성장 억제 활성이 더 뛰어난 특성이 있음을 새롭게 확인할 수 있었다. 따라서, 본 발명의 상기 락토바실러스 플란타룸 CJLP55 또는 이를 포함하는 배양액은 *P. acnes* 균주에 의해 발생할 수 있는 여드름의 개선

등을 위한 성분으로 이용될 수 있는바, 피부 상태를 개선하기 위한 용도의 조성물의 유효성분으로 유용하게 이용될 수 있다.

[64]

[65] [실험예 2]

[66] 락토바실러스 플란타룸 CJLP55의 섭취에 따른 피지 감소 및 피부 트러블 개선 효과 확인[67] 여드름 발생의 원인균이 되는 *P. acnes*의 생육을 억제하는 효과가 우수한 것으로 확인된 락토바실러스 플란타룸 CJLP55를 섭취하였을 때 인체에서 나타나는 피지 감소 및 피부 트러블의 개선 효과에 대한 확인을 위하여 인체적용시험을 수행하였다. 인체적용시험은 성인 90명을 대상으로 경희대학교 생명윤리위원회의 승인(승인번호: KHSIRB 18-016)을 받아 수행하였다.

[68]

[69] [2-1] 연구대상자 선정 및 실험군 배정

[70] 여드름이 있는 만 18-39세의 건강한 남녀를 대상으로 하기 표 2에 따른 부위별 피지 기준(SM815 sebum meter, Courage-Khazaka사, 독일) 및 하기 표 3에 따른 여드름 중증도 평가 시스템(Investigator's Global Assessment(IGA), 식품의약품 안전평가원 제공)을 적용하여, 원주세브란스 기독병원 피부과에서 이마와 T-존 부위의 피지 분비 수준이 'oily'이고, 여드름 중증도가 2-3등급으로 판정된 대상자를 모집, 선정하였다. 그리고 이중맹검을 유지하면서 대상자들을 위약군(Placebo group)과 유산균(락토바실러스 플란타룸 CJLP55) 섭취군으로 분류하여 시험을 수행하였다.

[71] 인체적용시험의 전체 대상자의 결과(ITT, intent to treat)와, 대상자 중 선발 시에는 유분 수치가 대상자에 해당했으나 0주차에는 유분 수치가 85 이상으로 측정된 사람이나 12주간의 섭취 기간 동안 항생제 복용 및 피부과 시술을 받은 대상자를 제외한 대상자들의 결과(PP, per protocol)에 대해 따로 통계 처리를 수행하였다.

[72] [표2]

	이마, T-zone, 두피
Less sebum	< 70
Normal	70 ~ 150
Oily	> 150

[73]

[표3]

등급	특징
0	병변 없음
1	병변 거의 없음 (결절: 없음, 구진/농포: 1개 이하, 면포: 소수)
2	경증 (결절: 없음, 구진/통포: 5개 이하, 면포: 약간)
3	중증도 (결절: 1개 이하, 구진/통포: 6개 이상, 면포: 다수)
4	중증 (결절: 5개 이하, 구진/통포: 다수, 면포: 다수)

- [74] **[2-2] 섭취 식품의 제조 및 섭취 방법**
- [75] 위약군에게 섭취시키는 위약(대조식품)은 락토바실러스 플란타룸 CJLP55를 미함유한 제품으로, 말토덱스트린 50 중량% 및 분말포도당 50 중량%를 함유하도록 제조하였다. 유산균 섭취군에게 섭취시키는 식품은 락토바실러스 플란타룸 CJLP55를 9 중량%, 말토덱스트린을 45.5 중량%, 분말포도당을 45.5 중량%로 함유하도록 하여 제조하였다. 상기와 같이 제조된 각 식품은 모양, 색, 향이 동일한 것으로, 섭취량과 섭취 방법은 1일 1회 식사와 상관없이 아침 또는 저녁으로 1회 1봉(2 g)을 그대로 입에 털어 먹거나, 20 ml 내지 40 ml의 물 또는 우유와 섞어 함께 총 12주 동안 복용하도록 하였으며, 타 약물을 복용 시 2시간의 간격을 두고 복용하도록 하였다.
- [76] 상기 유산균 섭취군의 경우, 장에 프로바이오틱스가 도달하여 유익한 기능을 나타내는 최소량에 해당하는 10^{10} CFU/1일이 되도록 락토바실러스 플란타룸 CJLP55를 섭취시킨 것이다.
- [77]
- [78] **[2-3] 통계분석 방법**
- [79] 인체적용시험을 통해 얻은 모든 자료의 기술 통계는 SPSS 23.0 프로그램(IBM, USA)을 이용해 실시하였다. 모든 피험자의 자료는 섭취 전 후(0-6주 또는 0-12주) 측정 결과에 대한 student's paired t-test를 실시하였고, 12주 섭취 기간 호의 군간 유의성은 student's unpaired t-test를 실시하였다. 유의성은 P-value < 0.05에서 검증하였다.
- [80]
- [81] **[2-4] 유산균 섭취에 따른 유분, 수분 및 pH 개선 효과 확인**
- [82] 먼저, 위약군 및 유산균 섭취군을 대상으로 12주 동안 상기 실험예 2-2에 따라 제조된 식품을 상기 섭취 방법에 따라 섭취시킨 다음, 피부의 유분, 수분 및 pH의 변화를 확인하였다. 0, 6, 12주차에 대상자들이 세안 후 온도 18-26 °C, 습도 26-53%가 유지된 공간에서 30분 이상 머무르게 한 후 이마와 T-존 부위에 탐침을 이용하여 Sebum meter(SM815, Courage-Khazaka Electronic GmbH사, 독일), Corneum meter(CM825) 및 pH meter(PH905)를 통해 유분, 수분 및 pH를 각각 측정하였다. 개별 대상자들의 각 주차별 수분, 유분 및 산도 수치는 5번 반복

측정값의 평균이다.

- [83] 유분, 수분 및 pH 측정 결과 중 ITT 분석 결과에 해당하는 위약군 42명, 유산균 섭취군 42명의 측정 결과를 하기 표 4에 나타냈고, PP 분석 결과에 해당하는 위약군 39명, 유산균 섭취군 39명의 측정 결과를 하기 표 5에 나타냈다.
- [84] 유분 변화에 대한 ITT 분석 결과, 위약군의 개인별 유분 수치 범위가 점차 커진 것과는 달리 유산균 섭취군의 개인별 유분 수치 범위는 섭취기간이 증가할수록 범위가 점차적으로 작아지는 것으로 측정되었다. 유산균 섭취군의 6주차, 12주차의 유분 함량은 0주차에 비해 유의적으로 현저히 감소하는 것으로 나타났고, 위약군과 비교할 때 군간 유의성도 나타났다. 유분 변화에 대한 PP 분석 결과의 경우에도, 위약군과는 달리 섭취 기간이 경과함에 따라 유분 수치 범위가 작아졌고 6주차, 12주차의 유분 함량이 0주차에 비해 유의적으로 감소하였다. 위약군과 비교할 때에도 군간 유의성이 있는 것으로 나타났다. 상기와 같은 ITT, PP 분석 결과로 볼 때, 락토바실러스 플란타룸 CJLP55 섭취에 의한 유분과 피지 감소 효과는 6주차부터 유의하게 나타났고 12주차에 이르러서는 그 효과가 현저하게 나타남을 확인할 수 있었다. 특히, 0주차와 비교할 때 유분의 30% 또는 50% 이상 호전된 대상자의 수가 ITT, PP 분석 결과에서 모두 통계적으로 유의하게 높게 나타났다(도 1a 및 도 1b).
- [85] 피부 보습의 지표인 표피 수분 변화에 대한 ITT 및 PP 분석의 경우, 6주차까지는 위약군과 유산균 섭취군에서 모두 보습이 개선되어 군간 유의성이 나타나지 않았으나, 12주차부터는 위약군보다 유산균 섭취군에서 보습이 더욱 유의적으로 증가하여 군간 유의성이 나타남을 확인하였다.
- [86] pH로 측정된 피부의 산도 변화에 대한 ITT 및 PP 분석 결과의 경우에도, 6주차까지는 산도 개선 효과는 유의하게 나타났으나 군간 유의성은 없었던 반면, 12주차에서는 유산균 섭취군에서 pH 감소에 따라 산도가 더욱 유의적으로 개선되어 군간 유의성이 나타났다.
- [87]

[표4]

ITT			위약군 (n=42)	유산균 섭취군 (n=42)	P-value (군간 유의성)
피지 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	6주차	0주차 대비 변화량(%)	-2.11 $\pm$ 1.99	-22.74 $\pm$ 2.25	0.000
		P-value	0.091	0.000	
	12주차	0주차 대비 변화량(%)	0.26 $\pm$ 4.20	-50.27 $\pm$ 2.49	0.000
		P-value	0.667	0.000	
피부 수분	6주차	0주차 대비 변화량(%)	9.28 $\pm$ 1.65	8.16 $\pm$ 0.96	0.562
		P-value	0.000	0.000	
	12주차	0주차 대비 변화량(%)	7.00 $\pm$ 2.46	15.74 $\pm$ 2.06	0.008
		P-value	0.012	0.000	
pH	6주차	0주차 대비 변화량(%)	-3.31 $\pm$ 1.09	-3.17 $\pm$ 1.20	0.929
		P-value	0.002	0.004	
	12주차	0주차 대비 변화량(%)	-1.80 $\pm$ 1.40	-7.18 $\pm$ 1.18	0.004
		P-value	0.150	0.000	

[표5]

PP			위약군 (n=39)	유산균 섭취군 (n=39)	P-value (군 간 유의성)
피지 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	6주차	0주차 대비 변화량(%)	-2.35 ± 2.13	-23.96 ± 2.24	0.000
		P-value	0.092	0.000	
	12주차	0주차 대비 변화량(%)	1.53 ± 4.29	-52.53 ± 2.11	0.000
		P-value	0.915	0.000	
피부 수분	6주차	0주차 대비 변화량(%)	9.59 ± 1.77	7.71 ± 0.96	0.353
		P-value	0.000	0.000	
	12주차	0주차 대비 변화량(%)	7.20 ± 2.63	14.16 ± 1.96	0.037
		P-value	0.017	0.000	
pH	6주차	0주차 대비 변화량(%)	-3.99 ± 1.05	-2.83 ± 1.20	0.471
		P-value	0.0002	0.008	
	12주차	0주차 대비 변화량(%)	-2.13 ± 1.45	-6.87 ± 1.25	0.016
		P-value	0.078	0.000	

[89] 또한, 상기와 같이 피부 건강을 나타내는 주요 지표 중 하나인 피부 산도는

표피에서 생성되는 젖산(lactate) 및 유리아미노산(free amino acid, FAA) 등의 전체 함량에 의해 결정될 수 있다. 이에 따라 상기 성분들의 함량 변화 역시 함께 측정하였다.

- [90] 0, 6, 12주차에 대상자들의 이마 및 T-존 부위에 테이프 스트립(22-mm D-SQUAME Tape, Cu Derm, USA)을 이용하여 표피 조직을 채취하였다. 젖산의 경우, 표피 조직에 증류수를 첨가해 sonication하여 추출한 추출물 내 L-lactate 성분을 키트(EnzyChrom™ L-lactate assay kit, Bioassay system, USA)를 이용해 상기 키트의 사용법에 따라 565 nm에서 측정하였다. 유리아미노산의 경우, 상기 테이프에 클로로포름/메탄올(2:1, v/v) 용액으로 sonication하여 추출한 추출물을 대상으로 키트(L-amino acid quantitation colorimetric/fluorometric kit, Biovision Co., USA)를 사용해 상기 키트의 사용법에 따라 측정하였다.
- [91] 상기와 같은 방법에 따라 측정한 표피의 젖산 함량 변화 및 총 유리아미노산 함량 변화에 대한 ITT 분석 결과를 하기 표 6에, PP 분석 결과를 하기 표 7에 나타냈다.
- [92] 표피의 젖산 함량 변화에 대한 ITT 분석 결과에 따르면 6주차 및 12주차에서 모두 위약군과 유산균 섭취군의 군간 유의성은 없었다. 그러나 PP 분석 결과에서는, 12주차에 유산균 섭취군의 젖산 함량이 유의적으로 증가한 것에 반해 위약군의 젖산 함량은 감소하여 군간 유의성이 나타났다. 표피의 총 유리아미노산의 경우에는, ITT 및 PP 분석 결과 모두에서 6주차, 12주차 모두 군간의 유의적 차이가 발견되지 않았다.
- [93] 상기와 같은 산도 변화와 산도 관련 지표 성분의 함량 변화의 PP 분석 결과로 볼 때, 락토바실러스 플란타룸 CJLP55를 섭취함에 따른 산도의 개선 효과는 젖산의 함량 증가에 따른 것임을 확인할 수 있었다.
- [94]

[표6]

ITT			위약군 (n=42)	유산균 섭취군 (n=42)	P-value (군간 유의성)
젖산 (nmol/ μ g protein)	6주차	0주차 대비 변화량(%)	37.03 $\pm$ 16.89	7.59 $\pm$ 14.23	0.186
		P-value	0.034	0.597	
	12주차	0주차 대비 변화량(%)	3.88 $\pm$ 11.73	10.32 $\pm$ 13.86	0.724
		P-value	0.743	0.461	
총 유리아미노 산(nmol/ μ g protein)	6주차	0주차 대비 변화량(%)	47.85 $\pm$ 16.67	83.96 $\pm$ 30.03	0.296
		P-value	0.006	0.008	
	12주차	0주차 대비 변화량(%)	32.24 $\pm$ 16.40	45.9 $\pm$ 16.38	0.557
		P-value	0.056	0.008	

[95]

[표7]

PP			위약군 (n=39)	유산균 섭취군 (n=39)	P-value (군간 유의성)
젖산 (nmol/ μ g protein)	6주차	0주차 대비 변화량(%)	22.47 $\pm$ 15.66	12.64 $\pm$ 16.25	0.665
		P-value	0.159	0.441	
	12주차	0주차 대비 변화량(%)	-9.76 $\pm$ 9.70	25.56 $\pm$ 13.65	0.038
		P-value	0.320	0.069	
총 유리아미노산(nmol/ μ g protein)	6주차	0주차 대비 변화량(%)	50.81 $\pm$ 17.76	94.66 $\pm$ 32.43	0.239
		P-value	0.007	0.006	
	12주차	0주차 대비 변화량(%)	30.79 $\pm$ 16.98	51.5 $\pm$ 17.65	0.400
		P-value	0.078	0.006	

[96]

[97]

[98]

[2-5] 유산균 섭취에 따른 피부 지질 함량 변화 확인

위약군 및 유산균 섭취군을 대상으로 12주 동안 상기 실험예 2-2에 따라 제조된 식품을 상기 섭취 방법에 따라 섭취시킨 다음, 피부의 지질 성분을 확인하고 이들의 함량을 확인하였다. 0, 6, 12주차에 대상자들의 얼굴 피부 부위에 테이프(22-mm D-SQUAME Tape, Cu Derm, USA)를 부착하여 피지의 지질을 채취하였다. 채취된 테이프를 클로로포름/메탄올(2:1, v/v)에 담가 2시간 동안 sonication을 통해 지질을 추출하였다. 이를 질소로 건조시키고 다시 클로로포름 용액에 용해시켜 HPTLC를 통해 중성지방(TG, triglyceride), 콜레스테롤 에스테르(CE, cholesterol esters), 유리지방산(FFA, free fatty acid), 콜레스테롤(Chol) 및 세라마이드(Cer)를 분리하였다(전개조건: 1차 전개액 CHCl₃/메탄올/물 (10:2.5:0.25, v/v/v) up to 2 cm, 2차 전개액 CHCl₃/메탄올/아세트산

(11.25:1.25:0.13, v/v/v) up to 5 cm, 3차 전개액 헥산/디에틸에테르/아세톤 (2.5:10:0.63, v/v/v) up to 6 cm, 4차 전개액 헥산/디에틸에테르 (12:0.73) up to 9.5 cm 순으로 전개). 각 분리된 분획은 TLC III 스캐너로 스캔하여 외부 표준법으로 정량 계산하였고, ITT 및 PP 분석 결과를 하기 표 8 및 표 9에 각각 나타냈다.

[99] 그 결과, 총 지질 함량의 경우 ITT 및 PP 분석 결과 모두 6주차부터 유산균 섭취군에서 지질 함량의 감소 효과가 군간 유의성을 나타냈다. 그 중 중성지방의 경우 ITT, PP 분석 결과 모두에서 6주차 이후부터 유산균 섭취군의 중성지방 감소에 대한 군간 유의성이 나타났고 12주차에는 그 효과가 더욱 현저하였다. 콜레스테롤 에스테르의 함량의 경우에도, 유산균 섭취군에서 그 감소 효과가 12주차에 군간 유의성이 나타났다. 총 유리지방산 함량은 군간 유의성이 없었고, 콜레스테롤 함량의 감소는 유산균 섭취군에서 6주차 이후부터 군간 유의성이 나타나 12주차에 더욱 현저하게 나타났다.

[100] 세라마이드의 경우, 세라마이드 1-7이 분획되었고, ITT 분석 결과에서는 군간 유의성이 나타나지 않았다. 그러나, PP 분석 결과, 주요 세라마이드인 세라마이드 2(Cer2)의 함량이 12주차에 유산균 섭취군에서 유의적으로 증가하여 나타났다.

[101]

[표8]

ITT			위약군 (n=42)	유산균 섭취군 (n=42)	P-value (군간 유의성)
중성지방(TG)(n mol/ μ g protein)	6주차	0주차 대비 변화량(%)	-0.54 $\pm$ 3.93	-19.92 $\pm$ 5.85	0.007
		P-value	0.112	0.0001	
	12주 차	0주차 대비 변화량(%)	4.56 $\pm$ 5.76	-27.28 $\pm$ 4.65	0.000
		P-value	0.784	0.000	
	6주차	0주차 대비 변화량(%)	-6.77 $\pm$ 3.76	-19.68 $\pm$ 8.84	0.183
		P-value	0.004	0.000	
콜레스테롤 에스테르(CE)(n mol/ μ g protein)	12주 차	0주차 대비 변화량(%)	2.89 $\pm$ 4.92	-22.66 $\pm$ 8.93	0.014
		P-value	0.531	0.000	
	6주차	0주차 대비 변화량(%)	-4.13 $\pm$ 5.22	-19.17 $\pm$ 5.93	0.060
		P-value	0.020	0.001	
유리지방산(FF A)(nmol/ μ g protein)	12주 차	0주차 대비 변화량(%)	10.80 $\pm$ 7.81	-9.31 $\pm$ 7.73	0.071
		P-value	0.682	0.006	

콜레스테롤(Chol)(nmol/ μ g protein)	6주차	0주차 대비 변화량(%)	-2.27 $\pm$ 6.73	-29.69 $\pm$ 5.27	0.002
		P-value	0.217	0.000	
	12주차	0주차 대비 변화량(%)	5.25 $\pm$ 12.69	-40.08 $\pm$ 3.89	0.001
		P-value	0.746	0.000	
세라마이드2(Cer2)(nmol/ μ g protein)	6주차	0주차 대비 변화량(%)	132.97 $\pm$ 68.00	185.43 $\pm$ 90.83	0.645
		P-value	0.057	0.048	
	12주차	0주차 대비 변화량(%)	17.17 $\pm$ 8.36	22.27 $\pm$ 7.41	0.649
		P-value	0.047	0.005	
세라마이드1,3-7(nmol/ μ g protein)	6주차	0주차 대비 변화량(%)	100.27 $\pm$ 73.43	129.12 $\pm$ 50.92	0.748
		P-value	0.180	0.015	
	12주차	0주차 대비 변화량(%)	8.09 $\pm$ 10.52	-2.12 $\pm$ 10.45	0.493
		P-value	0.446	0.840	

총 지질(nmol/ μ g protein)	6주차	0주차 대비 변화량(%)	-4.98 $\pm$ 3.32	-22.63 $\pm$ 5.08	0.005
		P-value	0.009	0.000	
	12주차	0주차 대비 변화량(%)	2.61 $\pm$ 4.53	-26.67 $\pm$ 4.38	0.000
		P-value	0.616	0.000	

[102]

[표9]

PP			위약군 (n=39)	유산균 섭취군 (n=39)	P-value (군간 유의성)
중성지방(TG)(n mol/ μ g protein)	6주차	0주차 대비 변화량(%)	-0.73 $\pm$ 4.22	-21.13 $\pm$ 6.22	0.008
		P-value	0.112	0.0001	
	12주 차	0주차 대비 변화량(%)	4.05 $\pm$ 6.19	-27.18 $\pm$ 4.95	0.0002
		P-value	0.720	0.000	
콜레스테롤 에스테르(CE)(n mol/ μ g protein)	6주차	0주차 대비 변화량(%)	-7.16 $\pm$ 4.02	-19.95 $\pm$ 9.48	0.218
		P-value	0.006	0.000	
	12주 차	0주차 대비 변화량(%)	2.79 $\pm$ 5.27	-21.72 $\pm$ 9.59	0.028
		P-value	0.555	0.000	
유리지방산(FF A)(nmol/ μ g protein)	6주차	0주차 대비 변화량(%)	-3.64 $\pm$ 5.60	-17.68 $\pm$ 6.32	0.100
		P-value	0.026	0.003	
	12주 차	0주차 대비 변화량(%)	8.91 $\pm$ 7.85	-6.99 $\pm$ 8.20	0.165
		P-value	0.658	0.019	

콜레스테롤(Chol)(nmol/ μ g protein)	6주차	0주차 대비 변화량(%)	-2.63 $\pm$ 7.18	-29.71 $\pm$ 5.60	0.004
		P-value	0.227	0.0001	
	12주차	0주차 대비 변화량(%)	6.12 $\pm$ 13.65	-38.83 $\pm$ 4.12	0.003
		P-value	0.751	0.000	
세라마이드2(Cer2)(nmol/ μ g protein)	6주차	0주차 대비 변화량(%)	116.77 $\pm$ 32.68	116.77 $\pm$ 32.68	0.855
		P-value	0.001	0.001	
	12주차	0주차 대비 변화량(%)	29.94 $\pm$ 7.33	29.94 $\pm$ 7.33	0.020
		P-value	0.000	0.000	
세라마이드1,3-7(nmol/ μ g protein)	6주차	0주차 대비 변화량(%)	97.32 $\pm$ 39.20	97.32 $\pm$ 39.20	0.928
		P-value	0.018	0.018	
	12주차	0주차 대비 변화량(%)	-3.70 $\pm$ 11.18	-3.70 $\pm$ 11.18	0.766
		P-value	0.742	0.742	

총 지질(nmol/ μ g protein)	6주차	0주차 대비 변화량(%)	-5.27 $\pm$ 3.55	-23.03 $\pm$ 5.42	0.008
		P-value	0.011	0.000	
	12주차	0주차 대비 변화량(%)	2.21 $\pm$ 4.84	-25.90 $\pm$ 4.67	0.0001
		P-value	0.593	0.000	

[103] 상기와 같은 인체적용시험의 결과를 종합하여 볼 때, 시험 대상자에게 섭취시킨 식품의 부형제로 포함된 말토덱스트린 및 분말포도당의 섭취는 섭취 6주차에서만 표피세포 및 피지선에서 일부 지질의 분비만을 억제하는 반면, 본 출원의 락토바실러스 플란타룸 CJLP55의 섭취는 중성지방, 콜레스테롤 및 콜레스테롤 에스테르와 같은 지질의 함량과 분비를 억제시킴으로써 피지의 전체 함량을 감소시키는 효과가 발생하며, 표피세포에서의 세라마이드의 생성을 선택적으로 증가시켜 피부의 보습을 유지하는 효과가 있어, 궁극적으로 여드름 중증도를 개선할 수 있는 효과가 발생하는 것으로 예상된다.

[104]

[105] [2-6] 유산균 섭취에 따른 피부 유해균의 감소 효과 확인

[106] 락토바실러스 플란타룸 CJLP55의 섭취에 따라 피부에서 증식하는 피부 유해균의 군총 변화를 분석하기 위하여, 먼저 한쪽 볼의 동일부위에서 30초 동안 문질러 피부 표면의 시료를 채취해 -80 °C에 보관하였다. 0주 및 12주차에서 얻어진 각 피부 시료는 16S rRNA V3-V4 영역에 대한 차세대 염기서열 분석(NGS, next generation sequencing, MiSeq)을 (주)마크로젠에 의뢰하여 실시하였고, 이렇게 얻어진 염기서열 데이터 전처리 및 데이터 분석을 통해 피부 군총의 변화를 분석하였다.

[107] 시험 대상자 중 위약군의 1명, 유산균 섭취군 3명의 시료에서 DNA 라이브러리 제작이 불가능하여, ITT 분석은 위약군 41명 / 유산균 섭취군 39명을 대상으로 하였고, PP 분석은 위약군 38명 / 유산균 섭취군 36명을 대상으로 하여 그 결과를 하기 표 10에 나타냈다. ITT 및 PP 분석 결과 모두, 유산균 섭취군의 경우 12주차에 프로피오니박테리움 속 및 스태필로코커스 속의 미생물의 비율이 위약군과 비교할 때 유의한 차이가 있는 것으로 확인되었다. 위약군의 경우, 피부 유해균으로 알려진 상기 프로피오니박테리움 속 및 스태필로코커스 속 미생물이 0주차에 비해 유의적으로 증가한 것에 반해, 유산균 섭취군의 경우, 12주 동안 유의적인 변화가 없어 상기 유해균들의 증식이 억제되었음을 확인할

수 있었다.

- [108] 또한, 상기 프로피오니박테리움 속으로 할당된 서열들에 대한 종(species) 수준의 분석을 수행한 결과, ITT 및 PP 분석 모두에서 평균 94%의 서열이 *P. acnes*인 것으로 확인되었다(도 2).

- [109] [표10]

	박테리아	위약군 (n=41)	유산균 섭취군 (n=39)	P-value(군 간 유의성)
ITT 분석	<i>Propionibacterium</i> 속	15.98%	9.51%	0.0154
	<i>Staphylococcus</i> 속	6.29%	4.30%	0.0376
		위약군 (n=36)	유산균 섭취군 (n=39)	
PP 분석	<i>Propionibacterium</i> 속	15.44%	9.07%	0.0080
	<i>Staphylococcus</i> 속	6.66%	4.59%	0.0364

- [110]

- [111] [2-7] 유산균 섭취에 따른 피부 거칠기 변화 확인

- [112] 위약군 및 유산균 섭취군을 대상으로 12주 동안 상기 실험에 2-2에 따라 제조된 식품을 상기 섭취 방법에 따라 섭취시킨 다음, 제거된 각질의 양을 측정함으로써 피부의 거칠기 변화를 확인하였다. 0, 6, 12주차에 대상자들의 팔 안쪽 부위(volar forearm)에서 테이프 스트립을 이용해 피부 각질층을 채취하고, 농도계(densitometer, SLB Myimager, Seoulin, 한국)의 고정된 위치에서 사진을 촬영하고 제거된 각질의 양을 상기 농도계로 측정하여 수치화해 비교하였다. 개별 대상자들의 주차별 각질의 양은 5개 테이프 스트립에 대한 측정값의 평균으로 계산하였고, ITT 분석 결과를 하기 표 11에, PP 분석 결과를 하기 표 12에 나타냈다.

- [113] 각 군의 각질의 수치화를 통해 측정한 피부 거칠기의 ITT 분석 결과의 경우, 6주차 및 12주차의 변화에 대한 군간 유의성이 없었으나, PP 분석의 경우, 위약군에 비해 유산균 섭취군의 피부 거칠기가 유의적으로 크게 감소됨을 확인하였고, 6주차부터 유산균 섭취군의 거칠기 개선에 대한 군간 유의성이 나타나 12주차에는 감소 효과가 더욱 현저하였다.

- [114] 상기와 같은 결과로 볼 때, 락토바실러스 플란타룸 CJLP55를 섭취한 대상자에게서는 각질이 감소하여 피부의 거칠기가 감소하였고, 이는 상기 유산균의 섭취에 의해 피부의 보습 유지 효과가 개선된 것을 의미한다.

- [115]

[표11]

ITT			위약군 (n=42)	유산군 섭취군 (n=42)	P-value (군간 유의성)
피부 거칠기 (mean raw density)	6주차	0주차 대비 변화량(%)	-3.92 ± 2.33	-8.10 ± 3.14	0.288
		P-value	0.100	0.014	
	12주차	0주차 대비 변화량(%)	-8.81 ± 2.27	-12.20 ± 2.76	0.346
		P-value	0.0001	0.0001	

[116] [표12]

PP			위약군 (n=39)	유산군 섭취군 (n=39)	P-value (군간 유의성)
피부 거칠기 (mean raw density)	6주차	0주차 대비 변화량(%)	-2.87 ± 2.38	-10.58 ± 3.02	0.048
		P-value	0.183	0.001	
	12주차	0주차 대비 변화량(%)	-6.72 ± 2.07	-14.31 ± 2.68	0.028
		P-value	0.0001	0.0001	

- [117] 상기에서는 본 출원의 대표적인 실험예를 예시적으로 설명하였으나, 본 출원의 범위는 상기와 같은 특정 실험예에만 한정되지 아니하며, 해당 분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 본 출원의 청구범위에 기재된 범주 내에서 적절하게 변경이 가능할 것이다.

청구범위

- [청구항 1] 락토바실러스 플란타룸 CJLP55(*Lactobacillus plantarum* CJLP55) 또는
이의 배양액을 포함하는, 피부 상태 개선용 조성물.
- [청구항 2] 청구항 1에 있어서,
상기 락토바실러스 플란타룸 CJLP55 또는 이의 배양액은 3 중량% 내지
15 중량%의 함량으로 포함되는 것인, 피부 상태 개선용 조성물.
- [청구항 3] 청구항 1에 있어서,
상기 조성물은 말토덱스트린 및 포도당을 더 포함하는 것인, 피부 상태
개선용 조성물.
- [청구항 4] 청구항 1에 있어서,
상기 조성물은 경구 투여용인 것인, 피부 상태 개선용 조성물.
- [청구항 5] 청구항 1에 있어서,
상기 피부 상태 개선은, 피지 억제, 피지 성분 개선, 여드름의 개선, 및
피부염 개선으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것인, 피부
상태 개선용 조성물.
- [청구항 6] 청구항 1에 있어서,
상기 조성물은 피지 내 중성지방, 콜레스테롤, 콜레스테롤 에스테르 및
유리 지방산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상을
감소시키거나, 세라마이드를 증가시키는 것인, 피부 상태 개선용 조성물.
- [청구항 7] 청구항 1에 있어서,
상기 조성물은 피부의 유분을 감소시키고 피부의 수분을 증가시키는
것인, 피부 상태 개선용 조성물.
- [청구항 8] 청구항 1에 있어서,
상기 조성물은 피부의 산도를 개선시키는 것인, 피부 상태 개선용 조성물.
- [청구항 9] 청구항 1에 있어서,
상기 조성물은 프로피오니박테리움(*Propionibacterium*) 속 또는
스타필로코커스(*Staphylococcus*) 속 미생물에 대한 항균 활성을 갖는 것인,
피부 상태 개선용 조성물.
- [청구항 10] 청구항 9에 있어서,
상기 프로피오니박테리움 속 미생물은 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*)인 것인, 피부 상태 개선용 조성물.