화장품 표시·광고 실증을 위한 시험방법 가이드라인 개정(안)

제12장 피부노화 완화

Ⅰ. 일반사항

1. 피험자수는 통계적 비교가 가능하도록 20명 이상으로 하여 유효데이터를 확보하여야 한다.

2. 인체적용시험 시 피험자에 대한 의학적 처치나 결정은 의사 또는 한의사의 책임하에 이루어져야 한다.

3. 인체적용시험은 피험자의 인체적용시험 참여 타당성을 검토·평가하는 등 시험 대상자의 권리, 안전, 복지를 보호할 수 있도록 실시되어야 한다.

4. 기타 따로 정하지 않은 사항은 '화장품 인체적용시험 및 효력시험 가이드라인'에서 정하는 바를 준용한다.

Ⅱ. 시험요건

1. 국내·외 대학 또는 화장품 관련 전문연구기관(제조 및 영업부서 등 다른 부서와 독립적인 업무를 수행하는 기업 부설 연구소 포함)에서 시험한 것으로서 시험기관의 장이 발급한 자료이어야 한다.

2. 관련분야 전문의 또는 병원, 국내외 대학, 화장품 관련 전문연구기관에서 5년 이상 해당분야의 시험경력을 가진 자의 지도 및 감독 하에 수행·평가되어야 한다.

3. 다만, 시험방법, 평가기준 등에 대해 과학적으로 타당성이 인정되는 경우에는 규정된 시험법을 적용하지 아니할 수 있다.

Ⅲ. 시험방법

1 피험자의 선정

다음 1항의 기준을 만족하며 2항의 선정제외 기준에 해당 사항이 없는 사람을 피험자

로 선정한다. 시험책임자 또는 시험책임자의 위임을 받은 사람은 시험의 목적 및 내용을 피험자에게 충분히 알려야 하고, 피험자는 자발적으로 '동의서'를 작성하고 시험에 참가한다.

1. 선정 기준

가. 30세~60세 성인 중 '선정 제외 기준'에 포함되지 않는 사람

나. 시험부위에 해당 노화의 요인(주름, 색소침착, 처짐)등을 가지고 있는 사람

다. 시험의 목적, 내용 등에 대해 이해하고 자발적 참여의사를 밝힌 사람

라. 발생 가능한 이상반응에 대해 이해하고 서면 동의서에 서명한 사람

마. 시험 기간 동안 추적 관찰이 가능한 사람

2. 선정 제외 기준

지원자와 면담하여 다음 사항에 해당되는 사람은 피험자에서 제외한다.

가. 감염성 및 아토피성 피부질환이 있는 사람

나. 알러지성 특이 체질(음식, 꽃가루 등)이거나 과민증이 있는 사람

다. 화장품, 의약품, 일상적 일광노출에 자극이나 알러지가 있는 사람

마. 임신 중이거나 수유 중인 사람

바. 생명유지를 비롯하여 정신 또는 육체 활동을 하는데 필요한 에너지 및 영양소가 부족한 상태인 사람

사. 약물이나 알코올중독자

아. 시험부위에 점, 여드름, 문신, 흉터, 모세혈관 확장, 화상자국 등이 있어서 시험부위가 시험에 영향을 미치는 사람

자. 동일한 시험에 참여한 뒤 3개월이 경과되지 않은 사람

차. 그 외 시험책임자가 판단하여 시험에 부적합하다고 생각되는 사람

3. 중도탈락 기준

인체적용시험에 참여하는 모든 피험자의 시험 완료 여부를 기록하고, 시험이 중단된 피험자는 이를 시험결과 산정에서 제외하고 최종 보고서에 중단사유 등을 기록하여 보고하여야 한다. 인체적용시험이 진행 중인 피험자를 시험책임자가 판단하여 시험을

중단할 수 있는 경우는 다음과 같다.

가. 피험자가 제한사항을 지키지 않은 경우

나. 피험자에게 중대한 이상반응(serious adverse events)이 발생한 경우 혹은 이상반응(adverse events)으로 인하여 피험자가 시험 중단을 요구하는 경우

다. 지나친 음주, 흡연 등으로 결과 평가에 장애가 발생한 경우

라. 인체적용시험 기간 중 주관적 판단에 의해 피험자가 시험 중단을 요구하거나 개인사정에 의해 추적관찰이 어려운 경우

마. 시험결과에 영향을 미칠 수 있는 유사한 효능의 화장품 및 의약품을 사용하거나 약물 등을 복용하는 경우

바. 기타 시험책임자가 시험을 진행하는 것이 적합하지 않다고 판단하는 경우

2 시험 부위

눈가, 팔자, 눈 밑 주름 부위와 입가 볼 부위를 시험부위로 하고, 색소침착 정도는 팔 상완부와 볼 부위를 시험부위로 한다.

3 시험물질 도포

시험시료는 피험자가 직접 시험부위에 도포하도록 한다. 도포횟수는 안면 시험부위에 1~2회를 원칙으로 하되 시료의 용법, 효능 및 이상반응을 고려하여 도포횟수 및 도포 총량을 결정 할 수 있다.

4 평가

시험에 들어가기 전 모든 피험자는 항온항습실(20～24 ℃, 40～60% RH)에서 30 분간 대기한다. 피험자는 인체적용시험 시작 1주전부터 평가결과에 영향을 미칠 수 있는 피부노화 완화를 목적으로 하는 치료제, 화장품 및 의약외품 등의 사용을 모두 금하고

의학적 처치, 마사지 등의 시술 또한 일체 금하도록 한다.

피험자는 시험 시작 전(0주)에 방문하여 시험시료를 지급받아 8주간 안면 시험 부위에 시험시료를 도포한다. 노화 완화 효능 평가는 시험 시작 전(0주), 적용 4주 후, 적용 8주 후에 평가하며 선택한 피부나이지수(aging index) 모형에 포함된 평가항목을 측정하여 평가한다.

1. 피부나이지수(aging index) 모형의 선정

노화 관련 부위에 대한 육안평가 및 기기평가 항목과 나이의 상관성, 단계적 회귀분석(stepwise regression)을 바탕으로 개발된 한국인의 피부나이지수(aging index) 모형 중 제품에 적합한 모형을 선정한다.

1) **육안평가** 피부나이지수(aging index) 모형

피부나이지수 = 16.788+2.243×(눈가주름 육안)+3.513×(팔자주름 육안)+2.301×(눈밑주름 육안)+2.985×(색소침착 육안)

2) **기기평가** 피부나이지수(aging index) 모형

피부나이지수(1) = 101.235–43.594×(색소침착 비)+1.963×(눈가주름 Ra)–116.418×(눈가탄력 R7)

피부나이지수(2) = 47.370–113.289×(눈가탄력 R7)+1.847×(눈가주름 Ra)+0.321×(처짐 R)

피부나이지수(3) = 77.214-103.559×(색소침착 비)+3.620×(눈가주름 Ra)+0.565×(처짐 R)

3) **육안평가 + 기기평가** 피부나이지수(aging index) 모형

피부나이지수 = 30.606–62.305×(눈가탄력 R7)+2.040×(팔자주름 육안)+0.854×(눈가주름 Ra)+1.846×(색소침착 육안)+1.163×(눈밑주름 육안)+0.224×(처짐 R)+0.984×(눈가주름 육안)

1. 측정

1) 제품 적용 전(0주)

(1) 육안 평가(눈가, 팔자, 눈밑주름 및 색소침착)

(2) 피부노화 평가

- PRIMOS High Resolution®을 이용한 눈가주름 평가
- Cutometer®를 이용한 볼 부위의 피부탄력 평가
- 모아레(Moire) 방법 측정기기를 이용한 입가 볼 부위의 안면 처짐 평가
- 색차계를 이용한 피부 색소 침착 정도 평가

(3) 피험자에 의한 주관적 설문평가

(4) 피부과 전문의와 피험자에 의한 안전성 평가

2) 제품 적용 후(적용 4주 후, 적용 8주 후)

세안 후 30분간 항온항습(20~24 ℃, 40~60% RH) 조건에서 안정을 취한 뒤 제품 적용 전과 동일한 방법으로 시험을 진행한다.

3) 제품 적용 전과 적용 후 피부나이지수(aging index) 모형을 통한 평가

선택한 피부나이지수(aging index) 모형에 효능평가 항목 별 결과를 대입하여 피험자별 예측나이로 변환한다. 각 피험자별 피부나이지수(aging index) 변환수치의 변화를 통계분석을 통해 확인한다.

2. 평가

1) 전문가에 의한 피부노화 육안 평가

안면 부위의 피부노화 정도를 평가하기 위하여 피험자의 주름의 정도를 등급(0～7)에 따라 눈가, 팔자, 눈 밑 부위에서 평가하고, 피부색의 색소 침착 정도를 등급(0～7)에 따라 안면 부위에서 평가한다.

두명의 숙련된 전문가가 0.5 단위로 점수화하고 등급내상관성(intraclass correlation) 일치도 평가를 통해 0.8 이상의 일치도를 보이는지 확인한 후 두 전문가가 평가한

점수의 평균값을 이용하여 평가한다.

등급(grade)	증상
0	증상없음 (none)
1	증상없음/경미 (none/mild)
2	경미 (mild)
3	경미/보통 (mild/moderate)
4	보통 (moderate)
5	보통/심각 (moderate/severe)
6	심각 (severe)
7	매우심각 (very severe)

그림1. 눈가주름 판정기준

그림2. 팔자주름 판정기준

그림3. 눈 밑 주름 판정기준

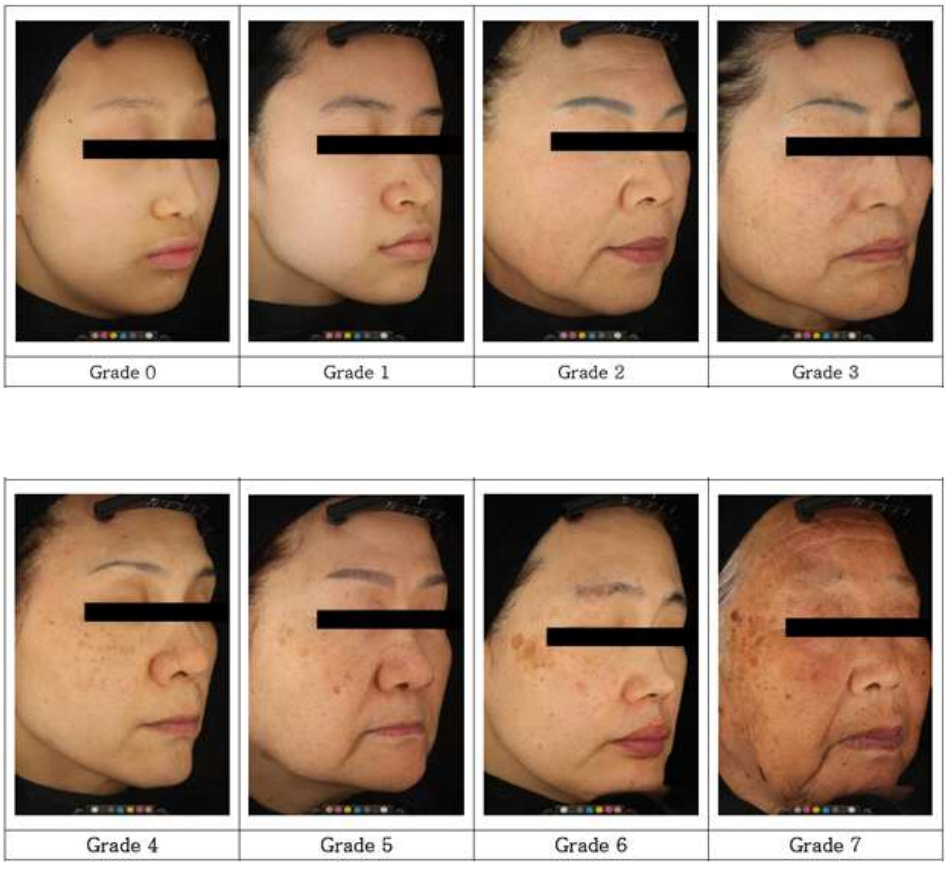


그림4. 색소침착 판정기준

2) 기기를 이용한 피부노화 평가

(1) PRIMOS®의 고해상도(High Resolution) 측정을 이용한 주름 평가

① PRIMOS®의 고해상도(High Resolution) 측정을 이용한 눈가주름 측정

PRIMOS® 고해상도(High Resolution)(Phaseshift Rapid In vivo Measurement Of Skin high resolution, GFMesstechnik GmbH, Germany) 측정을 이용하여 눈가주름을 측정하고, 시료 적용에 따른 눈가주름을 PRIMOS® 소프트웨어(PRIMOS version 5.8E)를 이용하여 분석한다. 눈가주름은 눈꼬리에서 수평으로 1 cm 가량 떨어진 부위에서 2.4 cm x 1.4 cm (가로x세로) 크기의 영역을 측정한다. 측정 부위의 수축 이완과 움직임을 방지 할 수 있는 PRIMOS® 고해상도(High Resolution) 측정용 고정 장비 세트에 피험자의 얼굴을 고정하고, 매 측정 시 동일한 부위를 측정하기 위해 장비를 시험 부위에 일치하도록 고정하여 측정한다.

② 화상분석을 이용한 눈가주름 분석

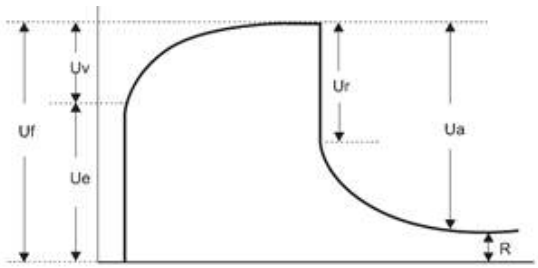
PRIMOS® 고해상도(High Resolution)의 3차원 측정은 피부에 평행 투영된 평행선 (parallel projection stripes)이 피부 표면의 높이 차이에 따라 변화되고, 이렇게 변화된 정도는 컴퓨터가 정량적으로 계산한다.

PRIMOS® 고해상도(High Resolution)에 의해 측정된 눈가주름 이미지를 3D 매칭(3D matching) 기능을 이용하여 측정부위에 일치시킨다. Ra(Average roughness: 단면의 거칠기 높이에 중심선을 그렸을 때 중심선에서 표면의 단면 곡선까지 길이의 절대값들의 평균) 값의 변화를 총 3회(제품 적용 전, 제품 사용 4주 후, 제품 적용 8주 후) 측정한다.

(2) Cutometer®를 이용한 피부탄력 평가

Cutometer® MPA 580(Courage and Khazaka, Germany)을 이용하여 시험 부위의 피부탄력을 측정한다. 시험부위는 PRIMOS® 측정과 동일하게 눈꼬리에서 수평으로 2 cm가량 떨어진 부위를 중앙으로 하여 측정한다. 탄력을 측정하는 장비인 Cutometer® MPA 580은 측정시간 동안 지속적으로 측정 프로브(probe)

에 음압을 가해 프로브 속으로 피부가 빨려 들어가도록 한 후 음압이 제거되면 피부가 원래의 모습으로 돌아가는 원리를 이용하여 피부탄력을 측정하며, 측정방법은 기기에 연결된 2 mm 직경의 프로브를 피부에 밀착시켜 비침습적인 방법으로 측정한다. 측정조건으로 모드1(Mode 1)을 사용하며, 일정하게 유지되는 450 mbar의 음압, 감압시간(suction time) 2초, 이완시간(relaxation time) 2초의 조건으로 연속 3번 측정한 뒤 산술평균을 구하여 측정결과를 얻는다. 피부탄력과 관련된 인자(parameter) 중 R7(biological elasticity: Ur / Uf)의 변화를 총 3회(제품 적용 전, 제품 적용 4주 후, 제품 적용 8주 후) 측정한다.

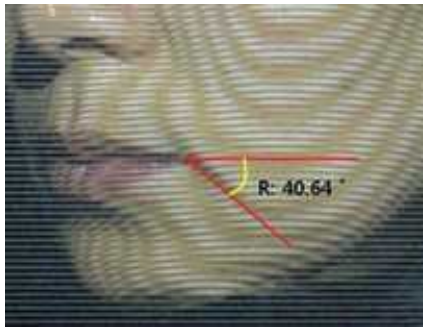


(3) 모아레(Moire) 방법을 이용한 입가 볼 부위의 안면 처짐 평가

모아레(Moire) 방법 측정기기, 조명세트 및 고해상도 디지털 카메라를 이용한다. 실내조명의 밝기와 동일한 조건에서 화상사진을 촬영한다. 사진 촬영은 동일 시험자가 진행하며, 촬영 조건(측정 방향 및 위치)을 고정할 수 있는 얼굴 고정 장비를 제작하여 사용할 수 있다. 시험 부위 중에서도 피부의 처짐 현상이 두드러지게 관찰되는 입가 볼 부위를 측정 부위로 선정하여 처짐을 평가한다.

분석 방법은 모아레(Moire) 방법을 통하여 촬영된 영상에서 입술이 끝나는 부위에서 수평선을 그리고, 입술이 끝나는 부위와 만나는 등고선의 수직교차선(접선)을 그린 후 이들이 이루는 각도(R)를 이미지 분석 프로그램(Image Pro Plus, USA)을 이용하여 분석한다.

안면 처짐이 개선되면 R 값이 감소되는 특성을 갖는데 이 R 값의 변화를 총 3회(제품 적용 전, 제품 적용 4주 후, 제품 적용 8주 후) 측정한다.



(4) 색차계를 이용한 피부 색소침착 정도(Skin photopigmentation) 평가

피부색 측정을 위해 널리 사용되고 있는 Chromameter CR-400(Minolta, Japan)을 이용하여 피부의 색소침착 정도를 평가한다. Chromameter CR-400은 사람이 인지하는 색을 세 가지 디지털 코드로 전환하는 장비이다.

색차계(Chromameter)로 밝기인자(brightness parameter)인 L* value를 측정한다. 팔 안쪽의 광에 노출되지 않은 상완부(팔꿈치 앞쪽에서 상부 방향으로 5 cm 부위에서 내측으로 5 cm)를 비노출 부위로 하며, 기미 및 잡티 등 색소성 질환이 없는 광대뼈 돌출 부위(노출 부위)를 노출부위로 한다. 색차계(Chromameter)로 3회씩 측정 후 평균값을 구한다.

각 부위에서 측정된 노출 및 비노출 부위의 L* value 값의 비(ratio)를 다음과 같이 구하며, 계산된 값이 1에 가까울수록 광노화에 의한 피부색의 차이가 작은 것으로 판단한다.

$$\text{색소침착 비 (photopigmentation ratio)} = \frac{\text{노출 부위의 L* value}}{\text{비노출 부위의 L* value}}$$

5 유해사례

유해사례 평가는 개인별 증례기록서(Case Report Form)에서 매회 피험자가 방문할 때마다 문진과 육안으로 유해사례[홍반(Erythema), 부종(Edema), 인설(Scaling), 가려움(Itching), 자통(Stinging), 작열감(Burning), 뻣뻣함(Tightness), 따끔거림(Prickling),

피부발진, 피부감염]나 다른 이상이 발생하는지 평가한다. 정도가 약한 정도인지, 중간 정도인지, 심한정도인지를 구분하여 기록한다. 그리고 시험 중지 또는 탈락사항이 발생하는지 점검하여 증례기록서에 기입한다.

방문하는 날이 아니더라도 시험에 더 이상 참가 할 수 없게 되는 경우에는 본인의 서명이 첨부된 “시험참가 포기동의서”를 쓰도록 한다.

6 통계 분석 방법

SPSS 통계처리 프로그램을 이용하여 제품 적용 전과 적용 4주 후, 적용 8주 후 피부나이지수(Aging Index) 변환 값에 대한 통계분석을 수행한다.

정규성 검정결과(Normality test)에 따라 시료 적용 전/후 간의 유의성 여부를 반복측정 분산분석(Repeated measures ANOVA) 또는 프리드만 검정(Friedman test)으로 확인한다. 유의한 차이가 나타난 시점을 확인하기 위하여 대비검정(Contrast test) 또는 윌콕슨 부호-순위 검정(Wilcoxon signed rank test)으로 사후 분석하여 95 % 신뢰구간에서 통계적으로 유의한 수준($p<0.05$)인지 평가한다.

Ⅳ. 결과보고

최종보고서에는 기본적으로 아래의 사항이 포함되어야 한다.

1. 시험의 종류 및 시험물질 정보
2. 시험의뢰자 및 시험기관에 관련한 정보
3. 시험기간
4. 피험자 : 선정, 제외 및 중도탈락 기준 등
5. 시험방법
6. 결과 : 평가지표, 측정치, 결과요약, 통계처리, 고찰 및 결론, 순응도 등
7. 신뢰성 보증자료

식품의약품안전처

Ⅴ. 참고문헌

1. Fu, J. J. J., et al. "A randomized, controlled comparative study of the wrinkle reduction benefits of a cosmetic niacinamide/peptide/retinyl propionate product regimen vs. a prescription 0·02% tretinoin product regimen." *British Journal of Dermatology* 162(3), 647-654. (2010)
2. Gilchrest, Barbara A., et al. "Skin Aging: Molecular Mechanisms and Tissue Consequences." *The Journal of investigative dermatology* 135(4), 950-953. (2015)
3. Valet, F., et al. "Assessing the reliability of four severity scales depicting skin ageing features." *British Journal of Dermatology* 161(1), 153-158. (2009)
4. Vierkötter, Andrea, et al. "The SCINEXA: a novel, validated score to simultaneously assess and differentiate between intrinsic and extrinsic skin ageing." *Journal of dermatological science* 53(3), 207-211. (2009)
5. Nkengne, Alex, et al. "The skin aging index: a new approach for documenting anti aging products or procedures." *Skin Research and Technology* 19(3), 291-298. (2013)
6. Qu, Di, and Yulia Park. "Skin youthfulness index, methods and applications thereof." U.S. Patent Application No. 14, 495-497. (2014)
7. Leštarević, S., et al. "Intrinsic skin aging: Histological properties." Praxis medica 42(3), 67-72. (2013)
8. Kim, Eunjoo, et al. "Age related changes in skin bio-mechanical properties: the neck skin compared with the cheek and forearm skin in Korean females." *Skin Research and Technology* 19(3), 236-241. (2013)
9. Nkengne, A., et al. "Influence of facial skin attributes on the perceived age of Caucasian women." *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 22(8), 982-991. (2008)
10. Puccetti, Germain, Tung Nguyen, and Cristina Stroever. "Skin colorimetric

parameters involved in skin age perception." *Skin Research and Technology* 17(2), 129-134. (2011)

11. Guinot Christiane, et al. "Relative contribution of intrinsic vs extrinsic factors to skin aging as determined by a validated skin age score." *Archives of dermatology* 138(11), 1454-1460. (2002)
12. Fisher, Gary J., et al. "Mechanisms of photoaging and chronological skin aging." *Archives of dermatology* 138(11), 1462-1470. (2002)
13. Escoffier, Catherine, et al. "Age-related mechanical properties of human skin: an in vivo study." *Journal of Investigative Dermatology* 93(3), 353-357. (1989)
14. Kim DH, Rhyu YS, Ahn HH, Hwang E, Uhm CS, “Skin microrelief profiles as a cutaneous aging index.” Microscopy (Oxf) 65(5), 407-414. (2016)