(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。Int. Cl.
A61N 5/06 (2006.01)

(11) 공개번호 10-2007-0052742
(43) 공개일자 2007년05월22일

(21) 출원번호 10-2007-7001632
(22) 출원일자 2007년01월23일
심사청구일자 없음
번역문 제출일자 2007년01월23일
(86) 국제출원번호 PCT/GB2005/002433
국제출원일자 2005년06월21일
(87) 국제공개번호 WO 2006/000757
국제공개일자 2006년01월05일

(30) 우선권주장 0414113.1 2004년06월24일 영국(GB)

(71) 출원인 버루라이트 디스트리뷰션 리미티드
영국 더햄 디에이치1 2티엔 해브굿 드라이브 53

(72) 발명자 도우걸, 고든 렉스 패터슨
영국 더햄 디에이치1 2티엔 해브굿 드라이브 53

(74) 대리인 김선애

전체 청구항 수 : 총 27 항

(54) 전자기선의 미용적 용도

(57) 요약

900 nm 내지 1500 nm 사이의 발산 전자기선의 소스로 피부를 조사함으로써 포유동물 피부의 표면을 미용적으로 처리하는 방법 및 상술한 파장의 전자기선의 용도가 개시된다. 미용적 처리는 주름 또는 잔주름을 감소, 약화, 제거 또는 줄이는 것, 피부를 젊게 하는 것, 노화의 가시적 징후를 지연시키거나 역전시키는 것, 피부 탄력, 색조, 질감 및 외양을 향상시키는 것 및 안면, 가슴, 팔, 둔부, 대퇴부, 복부, 또는 목 피부를 아름답게 하는 것을 포함한다.

대표도

도 1a

특허청구의 범위

청구항 1.

900 nm 내지 1500 nm 사이의 발산 전자기선의 소스로 피부를 조사하는 것을 포함하는, 포유동물 피부의 표면을 미용적으로 처리하는 방법.

청구항 2.

제1항에 있어서, 상기 미용적 처리는 주름 또는 잔주름을 감소, 약화, 제거 또는 줄이는 것, 피부를 젊게 하는 것, 노화의 가시적 징후를 지연시키거나 역전시키는 것, 피부 탄력, 색조, 질감 및 외양을 향상시키는 것 및 피부를 아름답게 하는 것인, 방법.

청구항 3.

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 피부는, 안면, 가슴, 팔, 둔부, 대퇴부, 복부 또는 목의 표피, 기저층 및 진피를 포함하는, 방법.

청구항 4.

제1항 내지 제3항 중 어느 항에 있어서, 상기 발산광은 10° 내지 50° 사이에 있는, 방법.

청구항 5.

제1항 내지 제4항 중 어느 항에 있어서, 상기 전자기선은 약 10 내지 120nm의 대역폭을 가지는, 방법.

청구항 6.

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 전자기선의 파장은 940nm, 950nm, 1040nm, 1060nm, 1072nm 및 1267nm을 포함하는 군으로부터 선택된 특정 파장 중 어느 하나 이상의 근처를 중심으로 둔 것인, 방법.

청구항 7.

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 전자기선은 연속적이거나 펄스되는, 방법.

청구항 8.

제7항에 있어서, 상기 전자기선이 연속적일 때, 그 강도는 적어도 500 μWatts/cm^2 이고 500 mWatts/cm^2이하인, 방법.

청구항 9.

제7항에 있어서, 상기 전자기선이 펄스될 때, 그 강도는 적어도 500 μWatts/cm^2 피크 전력이고 평균 전력은 500 mWatts/cm^2 이하인, 방법.

청구항 10.

제9항에 있어서, 상기 전자기선이 펄스될 때, 강도의 평균 전력은 50-100 μWatts/cm^2 범위인, 방법.

청구항 11.

제7항, 제9항 및 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 전자기선이 펄스될 때, 그 전자기선은 적어도 10-15 μ초 동안 적용되는, 방법.

청구항 12.

제7항, 제9항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 전자기선이 펄스될 때, 그 진동수/반복율은 300-900 Hz 범위인, 방법.

청구항 13.

제12항에 있어서, 상기 진동수/반복율은 약 600 Hz 또는 그 근처인, 방법.

청구항 14.

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 전자기선이 피부에 적어도 30초 그리고 수 분 이하로 적용되는, 방법.

청구항 15.

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 전자기선 소스는 발광 다이오드인, 방법.

청구항 16.

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 광선 소스 발산체는 940nm, 950nm, 1040nm, 1060nm, 1072nm 및 1267nm을 포함하는 군으로부터 선택되는 파장 중 어느 하나 이상의 파장 또는 그 근처의 파장에 중심을 둔 광선을 발산하도록 정렬된 적어도 하나 이상의 PN 접합체를 포함하는, 방법.

청구항 17.

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 특정된 파장에 또는 그 근처에 중심을 둔 파장은 10 nm 내지 120 nm 사이의 좁은 파장 대역을 가지는, 방법.

청구항 18.

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 특정된 파장에 또는 그 근처에 중심을 둔 파장은 약 50nm의 좁은 파장 대역을 가지는, 방법.

청구항 19.

900nm 내지 1500nm 사이의 발산 전자기선의 소스로 피부를 조사하는 것을 포함하는, 포유동물 피부 표면의 탄력 특성을 향상시키는 방법.

청구항 20.

900nm 내지 1500nm 사이의 발산 전자기선의 소스로 피부를 조사하는 것을 포함하는, 포유동물 피부의 표면적 및 부피를 줄이는 방법.

청구항 21.

900nm 내지 1500nm 사이의 발산 전자기선의 소스로 피부를 조사하는 것을 포함하는, 포유동물 피부의 표면의 UV 광 또는 광노화에 의한 피부 손상을 방지, 감소 또는 역전시키는 방법.

청구항 22.

제20항 또는 제21항에 있어서, 제3항 내지 제19항의 특징 중 어느 하나 이상을 더 포함하는 방법.

청구항 23.

피부 표면을 미용적으로 처리하는 데 사용되는, 900nm 내지 1500nm 사이의 발산 전자기선의 용도.

청구항 24.

제23항에 있어서, 제3항 내지 제19항의 특징 중 어느 하나 이상을 더 포함하는, 용도.

청구항 25.

말초 혈액 단핵 세포를 1072nm의 파장 근처에 중심을 둔 협소한 대역폭의 발산 전자기선에 노출하는 것을 포함하는, 면역세포 생존율을 향상시키는 생체외적 방법.

청구항 26.

제25항에 있어서, 상기 말초 혈액 단핵 세포는 임파구인, 방법.

청구항 27.

제25항 또는 제26항에 있어서, 상기 말초 혈액 단핵 세포는 파이토헤마글루티닌 (PHA)으로 자극되는, 방법.

명세서

기술분야

본 발명은 깊은 주름 또는 잔주름, 특히 그러나 전적으로는 아니지만 얼굴과 목의 주름과 노화의 다른 징후를 감소, 약화, 제거 또는 줄이기 위한, 전자기선의 미용적 용도에 관한 것이다. 본 발명은 또한 일반적으로 피부 회복, 노화의 징후 지연,

및 피부 탄력, 색조 및 외양을 향상시키는, 전자기선의 미용적 용도를 제공한다. 본 발명은 또한 노화의 가시적인 징후를 감소, 약화, 지연 또는 역전시키기 위해 피부를 처리하는 방법 및 피부를 아름답게 하는 방법, 및 그러한 미용적 처리를 유효하게 하는 장치를 제공한다.

배경기술

젊은 피부에서, 표피 바로 아래에 있는 콜라겐은 좋은 탄력과 유연성을 가지는 조직화된 격자를 이루고 있다. 여성들이 폐경기를 겪고 남성들이 나이를 먹음에 따라, 피부 주름 증가 및 피부 두께 감소를 겪게 된다. 노화과정에서, 상기 콜라겐은 그 구조가 변형되어 피부의 미용적 외양에 부정적인 영향을 주게 된다. 콜라겐에서의 이러한 변화는 또한 태양의 자외선에 오랫동안 노출되는 것에 의해 가속화될 수 있다. 매년 수십억 파운드가 미용 산업에 소비되고 있고, 평균 여성들이 피부 보호 제품 및 화장품에 매년 약 800 파운드의 돈을 사용하고 있는 것으로 추산된다.

화학적 필링물 또는 미용 조제물(cosmetic preparation)을, 특히 크림의 형태로 있는 것을 사용하여 주름을 방지 또는 약화시키고 이를 항노화제로 사용하는 것이 예전부터 알려져 있다. 그러한 조제물들은 합성 또는 천연 식물 및/동물 제품을 포함할 수 있다. 그러한 조성물은 국소적으로 및 통상 규칙적인 방식으로 적용하여 그 효과를 최대화시킨다. 그러나, 그러한 조성물을 영속적으로 사용한다고 하더라도 노화의 가시적인 징후를 약화시키는 데는 명백히 제한적이다.

미용 조제물 및 외과적으로 안면을 팽팽하게 하는 것에 대한 대안으로서, 저 준위 전자기선 소스(source)를 사용하여 피부에서의 광화학적 반응, 보통 생체자극 (biostimulation)이라고 칭하는 것을 얻는 것이 알려져 있다. 생체자극은, 콜라겐 생성 증가, 섬유아세포(fibroblast) 자극 증가 또는 DNA 합성 증가를 결과하는 향상된 복제 및 합성의 개념에 근거하고 있다. 광에너지는 세포 미토콘드리아 및 세포막내에 있는 시토크롬 및 포르피린에 흡수되어 소량의 싱글릿(singlet) 산소를 생성시킨다. 일반적으로 환자는 급성 상태인 경우 4 내지 6 번의 회기가, 만성 상태인 경우 6 내지 8번의 처치가 필요하다. 이러한 처치 유형은 기간이 길뿐 아니라 비용이 많이 든다.

1990년대부터, 레이저는 피부 박피(resurfacing) 및 주름 제거에 사용되어 왔다. 주름 제거는 조직이 한 층씩 벗겨지는, 그래서 진피를 상하게 하고 이도 화상을 야기하는 공격적인 기술이다. 열이 진피에 축적되어 콜라겐을 수축시키고 피부를 잡아당긴다. 레이저는 진피에서 콜라겐의 변성을 유도하고, 가교를 형성시켜 피부를 펴서 팽팽하게 하는 효과를 결과하고, 따라서 주름을 감소시키거나 제거하게 한다. 이러한 과정을 열분해 (thermolysis)라고 하며 조직의 열적 가열은 그러한 요법에 전제조건이고, 열분해에 대한 열적 역치는 약 70℃로 간주된다. 그러나, 전통적인 레이저 처치의 문제점은 환자가 화상을 참아야 하며 따라서 처치 후 수 주간 진물이 나는 피부, 딱지 및 홍조를 가지고 있게 된다. 이에 더하여, CO_2 레이저 주름 제거 처리 후 고도의 색소침착이 높은 유병율로 보고되고 있다.

따라서, 주름 또는 잔주름을 감소, 약화, 제거 또는 줄이고, 피부를 젊게 하고, 노화의 징후를 지연시키고 및 피부 탄력, 색조 및 외양을 향상시키고 일반적으로 피부를 아름답게 하는 대안적인, 효과적인, 그리고 안전한 방법이 요구된다.

발명의 상세한 설명

발명의 간단한 개시

본 발명의 일 관점에 따라서, 900 nm 내지 1500 nm 사이의 발산 전자기선(divergent electromagnetic radiation)의 소스로 피부를 조사(irradiating)하는 것을 포함하는, 포유동물 피부의 표면을 미용적으로 처리하는 방법이 제공된다.

본 명세서에서 사용되는 "미용적으로 처리하는 것"이란 용어는 주름 또는 잔주름을 감소, 약화, 제거 또는 줄이는 것, 피부를 젊게 하는 것, 노화의 가시적 징후를 지연 또는 역전시키는 것, 피부 탄력, 색조, 질감 및 외양을 향상시키는 것 및 일반적으로 아름답게 하는 것을 망라한다.

본 발명에서 사용되는 "피부"란 용어는 안면, 가슴, 팔, 둔부, 대퇴부, 복부 또는 목의 표피, 기저층, 및 진피를 망라한다. 본 명세서의 설명부 및 청구범위 부분을 통틀어, 단어 "포함하다" 및 "내포하다" 및 이의 변형어, 예를 들어, "포함하는" 등은 "망라하지만 이에 한정되지 않는"을 의미하고 다른 일부분(moieties), 부가체, 성분, 완전체(integers) 또는 단계를 배제하려고 의도되지 않는다.

본 명세서의 설명부 및 청구범위 부분을 통틀어, 맥락이 별다르게 요구하지 않는 한, 단수 개념은 복수 개념을 포함하는 것이다. 특히, 부정관사(indefinite article)가 사용되는 경우, 본 명세서는 맥락이 다르게 요구하지 않는 한, 단수는 물론 복수도 해당한다는 것으로 이해되어야 한다.

본 발명의 특정 관점, 구체예 또는 실시예와 관련하여 서술된 특성, 정수, 특징, 화합물, 화학적 부분체 또는 그룹들은 여기서 서술된 임의의 다른 관점, 구체예 또는 실시예와 양립할 수 없는 것이 아닌 한 적용될 수 있는 것으로 이해되어야 한다.

바람직하게는 발산광은 10° 내지 50° 사이에 있다. 발산은 전자기 소스로부터 발광된 전자기선이 적어도 5°의 발산 반각(divergent half angle)을 가지는 것을 의미한다. 바람직하게는 전자기선의 발산은 15° 내지 25° 범위에서 반각 발산이다.

따라서, 본 발명의 방법은 전자기선의 소스로서 레이저를 사용하는 것을 포함하지 않는 것으로 이해된다.

현재 놀랍게도, 작은 대역폭 (바람직하게는 대략 10 nm 내지 120 nm 및 더욱 바람직하게는 50nm)의 저강도 전자기선이 피부를 미용적으로 처리하는 데 효과적이라는 것이 확립되어 있다. 전자기선이 그 작용을 실현하는 방식은 세포 성분/세포기관, 비제한적 예인 유도성 산화질소 합성효소 (iNOS)와 같은 효소를 통하여 에너지를 전달하는 방식으로 가정되고 있다. 일정 범위의 전자기선 파장을 통과시키는 물 분자는 수 개의 전달 피크를 생성할 것이다. 이러한 전달 피크들은 본 발명의 선호되는 처리 전자기선 파장 범위와 연관이 되어 있고 따라서 작용의 일반적인 메커니즘에서 물분자의 역할을 함의하고 있다.

바람직하게는, 전자기선의 파장은 940nm, 950nm, 1040nm, 1060nm, 1072nm 및 1267nm을 포함하는 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 특정 파장 근처에 집중되어 있다.

본 연구는 이러한 전술한 파장들 및 특히 1072 nm 또는 1267 nm에 중심을 둔 단일 제한 대역폭 광에 중점을 둔 파장이 특히 주름 길이 및 면적을 감소시키는 데 효과적이라는 것을 보여준다. 이러한 두 개의 파장들은 물 분자 광 전달 프로필의 피크 방출 파장과 상응하다는 것이 유의할 만한 것이고 따라서 본 발명자들은 작용의 메커니즘이 물 및 가능하게는 세포막과 연관이 있다는 것을 확신하고 있다.

본 연구는 또한 1072 nm 및 880 nm가 생체외 임파구 생존력에 반대 효과를 이끌어 낸다는 것을 보여주는 바, 전자는 보호적이고 후자 파장은 세포독성이 있다는 것을 밝혔다. 더욱이, 본 발명자들은 1072 nm가 UV-매개 임파구 독성(lymphotoxicity)에 대항하여 보호한다는 증거를 제시한다.

바람직하게는, 전자기선은 연속적이거나 펄스되는 것이다.

바람직하게는, 전자기선이 연속적일 때, 그 강도는 적어도 500 μWatts/cm^2 이고 500 mWatts/cm^2 이하이다.

바람직하게는, 전자기선이 펄스될 때, 그 강도는 적어도 500 μWatts/cm^2 피크 전력이고 평균 전력은 500 mWatts/cm^2 이하이다. 상기 평균 전력은 광선이 적용되는 전체 시간 비율로 곱한 피크 전력이다. 예를 들어, 피크 전력이 500 μWatts/cm^2이고 600 Hz의 진동수(frequency)에서 10 μ초 동안 펄스된다면, 평균 전력은 30μ Watts/ cm^2이다.

열적 가온에 의존하는 선행기술 방법은 0.5 Watts/cm^2의 하부 한계를 지시하고 있으나, 임의의 열적 효과를 피하고자 하는 본 발명은 이러한 수준 이하에서 작동한다.

바람직하게는 전자기선이 펄스될 때, 그 강도의 평균 전력은 50 내지 100 μ Watts/cm^2의 범위에 있다.

본 발명자들은 피부에 적용시, 상기 전력이 500 μWatts/cm^2 피크 내지 500 밀리watts/cm^2 연속 또는 피크 전력 범위에서 적절히 변동할 수 있다는 것을 발견하였다. 일반적으로, 20 mWatts/cm^2를 피부에 사용하나, 이러한 값은 피시술자가 얼마나 지방질 또는 근육질이냐의 여부 및 따라서 주름선이 얼마나 깊은가에 달려있다.

바람직하게는, 전자선이 펄스될 때, 적어도 10-15 μ초 동안 적용되는 것이고, 더 바람직하게는 300-900 Hz 범위의 진동수/반복율(frequency/repetition)로 적용하는 것이고, 더 더욱 바람직하게는 상기 진동수/반복율이 약 600 Hz인 적용이다.

본 연구는 전자기선이 간섭적이거나 비간섭적일 수 있고, 임상적 결과는 이러한 변수에 의해 영향받지 않는다는 것을 나타낸다.

바람직하게는, 전자기선을 적어도 30초 그리고 수 분 이하로 시술 부위에 적용한다. 일반적인 노출 시간은 3 분 정도이나, 깊게 패인 주름의 경우 이 시간은 개별적 지방층 깊이에 따라 늘어날 수 있고, 노출은 최대 10 분 이하이다.

적용된 광의 처리량의 약 99%가 처리하는 동안 피부 표면에 걸쳐 손실되기 때문에 전자기선을 발산하는 전력원은 임상적 효과에 요구되는 강도보다 더 높은 강도를 생성해야만 될 것이라는 것을 밝힌다. 따라서, 적용된 광선의 강도는 처리를 행할 때 보정되어야 할 것이다.

전술한 바로부터, 전자기선이 연속적 또는 스위치 (펄스)되는 방식으로 목표 부위로 보내질 수 있다는 것이 이해된다. 스위칭의 주요 이득은 전력을 보존할 수 있고 훨씬 더 높은 피크 전력 출력을 가능하게 하여, 그럼으로써 미용적 반응을 향상시킨다는 것이다.

바람직하게는, 전자기선 요법 소스는 처리부위에 영향을 미치는 주위 광선의 양을 저감시키는 수단을 포함한다.

바람직하게는, 상기 전자기선 소스는 발광다이오드이다. 그러한 장치로부터 나오는 광선은 전기적으로 작동할 수 있거나 상기 광선은 광섬유 전달 시스템을 통해 적용장치로 전달될 수 있다.

바람직하게는, 상기 광선 소스 방출기는 전술한 특정 파장이나 그 근처를 중심으로 하는 파장으로 광선을 방출하도록 정렬된 PN 접합체를 포함한다. 단일 광 다이오드 조립체는 복수개의 배향된 접합체들을 포함한다. 적외선 발광 다이오드는 특정 진동수의 광선을 발산하는 것뿐 아니라 고강도 발산 빔을 방출하기 위해 정렬될 수 있다. 상기 발산광은 발광 중합체 (light emitting polymers)로부터도 유래될 수 있다.

본 발명은 가시광선에서 적외선 범위의 파장 및 940nm, 950nm, 1040nm, 1060nm, 1072nm 또는 1267nm 근처를 중심으로 하는 파장을 가지는 발산 전자기선으로 피부를 미용적으로 처리하는 방법에 관한 것이다. 전자기선을 저 강도로 적용하여 열적 손상 또는 가열이 처리 부위 근처의 피부 또는 임의의 다른 조직이나 기관에 야기되지 않도록 한다. 이러한 방식으로, 본 발명의 방법은 효과가 비열적이고 열분해를 피하기 때문에 선행기술과는 다르다. 이에 더하여, 본 발명은 향상된 복제 및 합성의 개념이 적극적으로 회피되기 때문에, 생체자극에 반직관적(counter-intuitive)이다. 실제, 본 발명에서 사용되는 파장들은 특이적으로 DNA 합성을 저해하고, 콜라겐 생성을 저해하고 및 섬유아세포 복제를 저해한다는 것이 발견되었다. 본 발명의 결과들은 선행 기술에서 콜라겐 밀도를 증가시켜 소정의 효과를 얻는 것과 달리 콜라겐 생성을 저해함으로써 세포 사이의 결합조직의 질이 놀랍게도 향상되는 것을 보여준다.

본 발명의 두 번째 관점에 따라서, 900 nm 내지 1500 nm 사이의 발산 전자기선 소스로 피부를 조사하는 것을 포함하는, 포유동물 피부의 표면 탄력 특성을 향상시키는 방법을 제공한다.

본 발명자들은 본 발명의 방법을 사용하여 엘라스틴 섬유가 덜 분절되고 더 균일해지고 따라서 피부의 탄력 특성을 향상시킨다는 것을 발견하였다. 예를 들어, 가슴 피부를 처리할 때, 본 발명자들은 피부 탄력뿐 아니라 조직 색조가 향상된다는 것을 발견하였다. 또한, 본 발명의 방법은 세포 생존율(cell viability)을 향상시킨다는 것이 발견되었다.

본 발명의 세 번째 관점에 따라서, 900nm 내지 1500nm 사이의 발산 전자기선의 소스로 피부를 조사하는 것을 포함하는, 포유동물 피부 조직의 표면적 및 부피를 감소시키는 방법을 제공한다.

본 발명의 방법에 의해 얻어진 결과들은 눈 위 및 눈 아래의 피부 부피를 줄임으로써, 안면의 측면이 처지는 외양을 줄일 수 있다는 것을 알려준다. 이러한 방식으로, 향상된 탄력 특성과 함께, 피부의 조직 부피 및 표면적 감소로 인하여 바람직한 미용적 효과가 얻어진다는 것을 보인다.

본 발명의 방법의 네 번째 관점에서, UV 광에 의해 야기된 피부 손상 또는 광노화를 방지, 감소 또는 역전시키는 데 사용될 수 있다는 것이 이해될 것이다.

본 발명의 다섯째 관점에 따라서, 표면 피부의 면적을 미용적으로 처리하는 데 사용되는, 900 nm 내지 1500 nm 사이의 발산 전자기선의 용도를 제공한다.

바람직하게는, 본 발명의 두 번째, 세 번째, 네 번째 및 다섯 번째 관점은 본 발명의 첫 번째 관점에 대해 전술된 특징들 중 하나 이상을 더 포함한다.

광요법, 레이저 및 LED 둘 다는 많은 처치 무대에서 임상적 이득을 제공하는 것이 밝혀졌다. 일단의 단일 및 다중 광조사 방식들을 사용하여, 1072 nm 및 880 nm의 파장 근처를 중심으로 하는 광의 효과를 파이토헤마글루틴 (PHA)으로 자극된 방금 제조된 인간 임파구상에서의 효과에 대하여 측정하였다. 5일간에 걸친 일일 단일 광조사 후 살아있는 세포수는, 미처리된 대조군에 비해, 1072 nm로 광조사된 경우 상당히 더 높게 및 880 nm 광조사된 경우 상당히 낮게 유지되었다. 이에 더하여, 세포수는 1072 nm로 예비처리되고 UVA에 노출된 후에는 UVA 만으로 처리된 세포에 비해, 훨씬 높다. 채취 후 3일째에 다양한 파장대역으로 두 번 광조사된 세포를 1072nm에 노출시킨 후 및 1072nm와 1268nm를 교대로 광조사한 후 % 세포 생존율증가, 및 880nm 광조사만을 한 후 % 세포 생존율 감소를 5일째에 확인한다. 이러한 관측은 1072 nm의 파장 근처를 중심으로 하는 광이 면역세포 생존율을 향상시키는 생체외 방법에서 유용할 수 있다고 확신하게 한다.

본 발명의 여섯 번째 관점에 따라서, 말초혈액 단핵 세포를 약 1072 nm의 파장 근처를 중심으로 하는 협소한 대역폭의 발산 전자기선에 노출시키는 것을 포함하는, 면역세포 생존율을 향상시키는 생체외적 방법을 제공한다.

바람직하게는 상기 말초혈액 단핵 세포는 임파구이다.

바람직하게는, 말초혈액 단핵 세포는 파이토헤마글루티닌 (PHA)에 의해 자극된다. 다음 상기 세포는 채취된 개체로 재도입되어 면역 시스템을 증강시킬 수 있다는 것이 이해될 것이다.

본 발명의 다른 관점에 따라서, 피부의 미용적 처리에 사용될 수 있는 휴대용 발광 장치를 제공하는바, 상기 장치는 900nm 내지 1500nm 사이의 발산 전자기선을 생성하는 발광 수단에 전력을 공급하는 전력 수단, 광이 지나가는 신축적이 있거나 모양이 형성된 패널, 및 상기 신축적이거나 모양이 형성된 패널이 부착된 하우징을 포함하여, 미용적 처리를 요하는 신체 일부분 주위의 선에 따라 형성될 수 있다.

바람직하게는 상기 전력 수단은 배터리이거나 교류 전기(mains eletricity)이다.

바람직하게는, 상기 발광 장치는 LED 이거나, 더욱 바람직하게는 복수개의 LED이다. 본 발명의 장치는 레이저 장치가 아니라는 것이 이해될 것이다.

바람직하게는, 상기 장치는 또한 940 nm, 950 nm, 1040 nm, 1060 nm, 1072 nm 및 1267 nm를 포함하는 군으로부터 선택된 하나 이상의 특정 파장에 또는 그 근처에 중심을 둔 파장을 가지는 광선을 방출하도록 배열된 적어도 하나 이상의 PN 접합체를 포함한다.

실시예

실시예 1

일단의 방법들을 사용하여, IR1072 처리는 PHA 아세포 생존에 중대한 보호 효과를 일관성 있게 이끌어낸다. 반면에, IR880은 대조군 및 IR1072 처리 세포에 비해 일관적으로 세포독성적이다.

IR1072로 조사 후, % 세포 생존율은 3일 및 5일 째에 단일 및 다중 5 x 3 분 처리 프로토콜 후의 대조군 데이터와 비교하여, 5일째에 유의성 있게 증가하였다 ($p<0.05$) (도 6). 다음 프로토콜에서, 세포를 IR1072 및 IR880으로 5 x 3 분 조사하였고, % 세포 생존율은 IR1072로 처리한 세포에 비해 IR880로 둘 다 처리한 후에는 5일째에 유의성 있게 감소하였다 ($p<0.01$) (도 6). 8일간에 걸쳐 매일 처리하면, 병행 실험에서 IR1072로 조사된 세포에 비해서 IR880 처리된 세포에 대해서는 % 세포 생존율이 유의성 있게 감소하였다 [1일째 ($p<0.01$), 3일째 ($p<0.01$), 4일째 ($p<0.05$), 5일째 ($p<0.05$) 및 8일째 ($p<0.05$)] (도 7). IR1072로 예비처리하고 후속적으로 UVA에 노출시킨 후에는, UVA로만 처리된 세포에 비해 % 세포 생존율은 유의성 있게 더 높게 유지되었다 ($p<0.01$) (도 8). 다양한 파장대역으로 조사 후, 다시 세포를 IR880에 노출시키면, % 세포 생존율이 유의성 있게 감소한 반면($p<0.01$), IR1072 ($p<0.01$) 및 교번적인 IR1072/IR1268($p<0.01$) 파장대역 광으로 처리한 후에는 미처리된 대조군 모두에 비해 % 세포 생존율이 더 높았다 (도 9).

시험된 모든 다른 파장 및 조건이 세포 생존율에 유의성 있는 효과를 가지지 않는다. 855-905nm 범위의 파장이 섬유아 세포 증식을 자극할지라도, 이러한 범위의 광은 임파구 독성 (lymphotoxic)인 것으로 나타난다는 것을 발견하였다. 세포에

대한 세포독성 및 보호 효과는, 분석이 IR 광에 노출 2 시간 내에 이뤄지고 상기 두 효과가 오래 지속, 적어도 처리 후 2일간 관측되기 때문에, 신속하다. 본 연구는 1050nm - 1100nm 범위의 광이 단일 및 다중 처리 방법 후에 세포 생존력을 향상시킨다는 것을 명백히 증명하고 있다. 박테리아성 내독소 및 외독소가 류코독성 (leucotoxic) 요소일 때, 불리한 요소의 존재 하에서 임파구 생존력을 유지하는 것은 중요한데 이의 효과는 1072nm + 25nm 광으로 염증성 세포를 조사함으로써 감소될 수 있다. IR 광은 UVA에 대하여 방어 효과를 가진다고 오래전부터 가정되었으나, 정확한 범위의 파장은 알려져 있지 않았다. 상기 결과는 1072nm + 25nm 광이 UVA의 손상 효과의 일부를 방어한다는 것을 제시하고 있다.

실시예 2

산화 질소는 다양한 세포 타입에서 아포토시스의 강력한 저해체로 나타나고 있다. NO는 물 및 세포막 둘 다를 통해 매우 빠르게 확산되며, iNOS는 eNOS 및 nNOS보다 더 빠르고 효과적으로 생성된다. iNOS는 세포내 칼슘 농도 증가 없이 작용할 수 있고, 이의 활성은 사이토카인 및 미생물 산물에 노출된 후, 면역세포, 예를 들어, 일차 활성된 단핵세포 및 대식세포에서 신속히 유도될 수 있다.

IR1072에 노출함으로써 야기된 오래 지속되게 관측되는 세포보호에 근저가 되는 잠재적 메커니즘을 설명하기 위해, 대조군 및 IR880nm에 비교하여, iNOS의 발현을 탐침하여, 정량적 면역블랏팅을 수행하였다. IR1072로 예비 처리 후, 대조군에 비해, iNOS 면역반응성에서 4.9 ± 2.1-배의 유의성 있는 증가 ($p<0.05$)가 5일째에 검출되었다. 반면에, 병행 수행된 연구에서, IR880로는 유의성 있는 iNOS 증가 (5일 동안 2.1 ± 2.2-배) ($p > 0.05$)가 관찰되지 않았다 (도 10).

생화학적으로, 이러한 본 발명의 결과는, 미처리 대조군에 비해서 파장 의존적 방식으로 iNOS가 상방 제어되어 (upregulated) 있다는 것을 나타내고 있다. NO는 두 가지 구별되는 메커니즘에 의해서 아포토시스의 저해체로서 작용한다고 판단된다: 먼저, NO가 카스파제-3-유사 프로테아제 활성 수준 또는 이의 상부에서 작용하여 상기 프로테아제의 활성을 방지하는, cGMP-의존성 메커니즘을 통해; 둘째로, NO는 또한 카스파제-3-유사 프로테아제의 활성을 그 효소를 S-니트로실화함으로써 저해한다. 카스파제-3-유사 활성을 억제하면 세포는 프로그램화된 세포사로부터 구출된다.

실시예 3

안면 및 눈의 피부를 광원으로 처리한 후, 주름 깊이, 길이 및 면적의 감소를 관찰하였고, 또한 눈 위의 피부의 표면적 감소 및 눈 아래 주머니의 두드러짐 감소를 관찰하였다. 인공물(artifact)에 의한 결과를 최소한도로 감소시키기 위해, 일정한 조명 박스를 사용하였다. 이것은 피험자로부터 카메라의 렌즈 거리 및 노출을 일정하게 할 수 있다. 피험자들은 동일한 위치상에 집중되며 턱을 고정 위치에 올려놓고 코는 줄과 닿게 하여 사진 간의 회전(rotation)을 최소화하도록 한다. 다음, 피험자들에게 광원을 부여하여 스스로 적어도 하루 한 번, 바람직하게는 하루 두 번 처리하게 하였다. 1 달 후, 일차 추적 사진을 찍고, 그 후 2 개월에 다른 일련의 사진을 찍었다. 사진을 찍을 때, 모든 시간 모든 경우에, 얼굴에서의 표정 짓는 것을 금하고, 눈은 동일한 정도로 떠서, 눈 위의 피부와 직접적인 비교를 할 수 있게 하며, 그리고 모든 경우에서 조명박스 상에 동일한 장소를 응시하게 하는 것이 필수적이었다. 4 가지 사진을 찍었는데, 좌측 정면, 우측 정면, 좌측 측면 및 우측 측면이다. 이것은 눈 아래의 주머니 및 주름 길이와 깊이를 직접적으로 비교하기 쉽게 한다. 수직 또는 수평면이 아닌 주름은 인공적인 차이가 있을 수 있기 때문에 회전에서 조금만 차이가 나도 조사하지 않았다. 또한, 상기 전자기 미용 처리가 적용된 몸의 다른 다양한 부분에서 조직 및 근육 색조가 향상되는 것도 관찰하였다. 이러한 결과는 노화의 가시적인 징후를 줄이는데 질적인 향상을 보이며, 상부 눈꺼풀에 악영향을 미치는 잉여의 피부 감소를 보이고, 안면 조직의 색조를 유지하게 하고 따라서 젊은 비구순 주름(nasolabial fold) 및 얼굴 윤곽을 유지하게 한다.

본 발명의 방법은 피부 질감 및 윤곽을 향상시켜 피부를 더 매끈하게 하였다결과하였다. 이러한 효과들은 처리가 중단된 후 1 내지 3 달간 지속될 수 있고 특정의 경우 최대 10년 정도 노화의 가시적 징후를 역전시킬 수 있다.

상기 광을 대퇴부 및 둔부에 적용시, 관찰되는 셀룰라이트에서 상당한 향상이 되며, 중력 영향에 의한 둔부의 처진 정도를 감소시킨다.

도 11a를 참조하면, IR 1072nm로 매일 2 달간 처리한 후의 효과를 처리 개시전의 동일한 개인의 도 11b와 비교하여 나타내고, 도 11c는 동일한 개인을 IR 1072nm로 처리전과 한달 처리후의 사진을 겹쳐놓은 것이다. 한달 처리 후, 상부 꺼풀이 동일 장소에서 각막을 분할하고 각막에서의 광반사가 대조군 및 시험 건에서 동일하기 때문에, 눈꺼풀 상의 피부 주름을 직접 비교할 수 있는 것을 관찰하였다 (도 11c). 상부 꺼풀이 처리 후 덜 처진다는 것을 관찰하였다. 이러한 처짐은 두 달간 처리 후 더 향상되었다 (도 11a).

실시예 4

도 13a를 참조하면, 처리 전 개인의 측면이 나타나 있고, 도 13b에는 처리 후 동일한 개인의 측면이 나타나 있다. 상기 개인은 각막 가장자리(corneal limbus)보다 열악한 색소 침착 부위의 확연한 표식을 가지고 있었다. 검은 마커 선에 수직으로 선을 긋고 하기와 같이 측정하였다:

도 13a 도 13b

1. 코끝: 34.2mm 38.3mm

2. 선에서 색소침착 부위까지: 20.3mm 28.6mm

3. 선에서 주머니까지(꺼풀 7 mm아래) 18mm 23.2mm

색소 침착된 부위까지의 선: (38.3/34.2) x 20.3 = 22.7mm 및 주머니까지의 선:(38.3/34.2) x 18 = 20.2mm에 대하여 척도 변경으로 인한 조정 (코까지의 거리)을 실시하였다.

보정 결과

	이전	이후
색소침착 부위까지의 선	22.7mm	28.6mm
주머니까지의 선	20.2mm	23.2mm

상기 방법을 사용하여, 8 명의 지원자에게서 주머니 감소를 측정하였고, 눈 아래 주머니의 크기감소가 7명에게서 나타났다.

실시예 5.

눈의 조리개를 도 14c 이전과 이후 둘 다에 동일하게 만들고, “이전” 사진 (도 14a)에서 한쪽 눈의 일부를 도려내고 “이후” 사진 (도 14b)로부터의 상기 눈의 상보적인 면과 통합하였다. 피부 질에서의 향상을 쉽게 알 수 있다. 결과로, 주머니 크기를 측정하였고, 처진 피부를 측정함으로써 눈가 주위의 주름을 단순히 산정하는데 선천적인 변이성을 제하였다.

	주름	눈밑의 주머니	눈꺼풀 위의 처진 피부
향상	n=18	n=6	n=14
비향상	n=2	n=1	n=2
	p=0.0004	p=0.1	p=0.004

본 연구에 관련된 20명의 참가자 중 19명이 1072nm 광 요법이 효과적이라는 것에 만족을 표시하였다 p=0.00004.

상기 기본 사진을 미용적 시도의 대조 관점으로서 사용하여, 상기 데이터는 본 발명의 방법 및 장치의 효율성을 증명하고 있다. 매일 처리함으로써 좀더 젊은 외모를 가지는 데 긍정적인 결과를 대부분의 참가자가 획득하였다.

도면의 간단한 설명

본 발명은 하기 도면을 참조하여 설명될 것이며, 여기서

도 1은 본 발명의 방법을 실행하는 장치 중 하나에 대한 평면도(도 1a), 측면도(도 1b) 및 단면도 (도 1c 및 1d)를 나타낸다.

도 2는 본 발명의 방법을 실행하는 또 다른 장치의 측면도를 나타낸다.

도 3은 본 발명의 방법을 실행하는 또 다른 장치의 정면도이고,

도 4는 이의 측면도이고,

도 5는 이의 배면도이다.

도 6의 컬럼 1 및 2는 5일째에 아포토시스(apoptosis)에 대한 시험 전에 3일 및 5일째에 IR1072의 단일 3분 처리 후 PHA 아세포의 % 세포 생존율을 나타내고 있다. 데이터를 각각의 대조군과 비교하고, ANOVA를 이용하여 분석하였고, 여기서 *p<0.05이었다. 컬럼 3, 4 및 5는 5 일째에 세포 생존율에 대한 시험 전에, 3 일째 및 5 일째에 IR1072 & 1R880로 다중적으로 5 x 3 분 처리한 후 PHA 아세포의 % 세포 생존율을 나타낸다. 데이터를 5 일째에 각각의 대조군과 비교하고, ANOVA를 이용하여 분석하였고, 여기서 **p<0.01이었다

도 7은 IR1072 또는 IR880으로 광조사하는 하루 한번 3분 처리 후 PHA 아세포의 % 세포 생존율을 나타낸다. 세포 생존율은 아넥신 (Annexin) V 아포토시스 키트를 사용하여 결정하였다. IR1072 데이터를 각각의 1R880 데이터와 비교하면서 ANOVA를 이용하여 분석하였고, 여기서 유의성 있는 차이는 1, 3, 4 및 5일째에 나타났고, *p<0.01이었으며, 2일째에 유의성 경향이 보였다.

도 8은 IR1072로 3 일째에 4 x 3 분 예비 처리하고 4 일째에 1 x 3 분 처리한 후, 세포를 4 시간 배양한 다음 UVA에 40분간 노출시킨 PHA 아세포를 나타내고 있다. 다음 샘플들의 세포 생존율을 분석하였다. 데이터를 UV 처리만 한 것과 비교하여, ANOVA를 이용하여 분석하였고, 여기서 **p<0.01이었다.

도 9는 3 일째 2 x 3 분간 처리한 PHA 아세포에 대한 다양한 파장 대역의 효과를 분석한 것이다. 다중 ANOVA를 이용하여 데이터를 미처리 대조군과 비교하여 분석하였고, 여기서 **p<0.01이었다.

도 10은 iNOS 단백질 발현 수준에 대한 IR 처리의 효과를 보이는 웨스턴 블랏을 나타낸다. PHA 아세포들을 일일 1 x 3 분 적외선 소스, IR1072 또는 IR880에 노출시키고, 선택적인 항-iNOS 항체 (Autogen Bioclear, UK)를 이용하는 정량 면역블랏팅 방법 (면역블랏들은 베타-액틴 항체 (Sigma, UK)로 재탐침되고 표준화되었다)을 사용하여 3 및 5일째에 iNOS 단백질 발현에 대하여 분석하였다. 레인1, 대조군 세포 (5일째); 레인 2, IR1072-처리 세포 (5일째); 레인 3, IR880-처리 세포 (5일째). p <0.01에서 유의성 수준을 설정하고, 다중 ANOVA를 사용하여 데이터를 비교 분석하였다.

도 11a는 1072 nm로 매일 2 달간 처리한 후의 효과를 나타내고 이에 대하여, 도 11b는 처리 개시 전의 동일 개인을 나타내며, 도 11c는 동일한 개인에 1072nm로 한 달간 처리한 후 전과 후의 사진을 포갠 이미지를 나타낸다.

도 12는 인간 연구를 위한 방법을 도식적으로 나타낸 것이다.

도 13a (이전) 및 13b는 다중 처리의 효과 및 눈 밑의 주머니(bag)가 감소된 것을 나타낸다.

도 14a, 14b 및 14c는 동일한 방법으로 처리된 도 12와 다른 개인을 나타내고 있다.

상세한 설명

청, 황 또는 적색 파장에 있는 비열적(non-thermal) 광을 사용하여 잔주름 및 주름을 처리하는 데 유효하다고 주장하는 몇 개의 제품이 있다. 본 발명에서는, 파장 의존적인 임의의 생리적 반응을 확인하고자 하였다. 사용된 파장은 660nm 내지 1268nm 범위에 있었고, 다양한 제한적인 대역폭을 단독 및 조합하여 조사하였다. 1072nm에 중심을 둔 단일의 제한 대역폭의 광이 인간 임파구에 긍정적인 효과를 가지는 것으로 밝혀졌다. 이러한 파장의 광은 UV 광선의 손상 효과, 공지된 광노화제 효과에 대항하여 인간 임파구를 보호하는 것으로 나타났다.

본 발명의 방법을 실행하는 바람직한 장치는 휴대용 발광 장치(1)이고, 이것은 배터리 또는 교류로 작동될 수 있다. 이러한 장치는 처리될 부위 (2), 안면, 눈, 팔, 대퇴부 또는 가슴의 형상에 맞춰진다.

도 1a는 손 휴대용 발광 장치의 평면도이고, 도 1b는 측면도이고 도 1c 및 1d는 단면도로서, 눈에 편리한 형상을 가진다. 적외선이 투명 패널 (3)을 투과하여 처리될 피부에 도달한다. 이러한 유니트에 대한 전력 공급원이 관통부위 (4, through area)에 연결되어 있고 상기 장치는 몸체 (5)에 의해 그 장소에 고정된다. 패널 (3)은 약간 오목하여 처리될 부위의 형상에 맞도록 되어 있고 상기 안와(orbit)를 넘어 위치될 경우 눈에 부과되는 과도한 압력을 피하게 한다. 공간(6)은 제어 전자기기를 내장하고 있고, 이는 처리 주기의 강도 및 지속 기간을 제어한다. 이것은 또한 LED(7)들을 내장하고 있다. 도 2는 피부의 더 큰 부분에 두기 위한 장치의 다른 예를 나타내고 있다.

첨부된 도면 중 도 3 내지 5를 참조하면, 본 발명에 따른 제 2 실시예가 다중-패널의 좁은 파장 광선 소스의 형태로 있다. 이 경우, 복수개의 패널(7)이 힌지(8) 위에 옆으로 하나씩 장착하고, 다음 스탠드(9)에 연결 아암(10, 11)으로 연결한다. 이러한 배열은 패널이 서로에 대하여 움직일 수 있고 상기 스탠드를 조절하여 조명 방향을 바꾸게 할 수 있는 것이다. 상기 스탠드는 마루로부터 연장되거나 의자나 침대에 부착된다.

각 패널(7)의 전면 벽은 투명하고, 일련의 광선 방출 장치(12)들이 전면 벽 아래에 장착된다.

상기 장치의 전술한 실시예에서와 같이, 본 발명의 이번 실시예는 광선의 적용 시간을 제한하고 주위 광선을 탐지하며 주위 광선의 역치값이 과도하게 될 때 경보를 울리는 제어 전자기기를 포함한다.

본 발명의 장치를 둔부와 다리, 및 가슴의 조직 색조에 악영향을 미치는 셀룰라이트의 미용적 향상에 사용할 수 있고, 대체적으로 안면을 처리하는데도 사용할 수 있다.

방법 및 재료

세포 준비

건강한 지원자로부터 얻은 인간 전혈을 헤파린 처리하고, Lymphoprep (Axis-Shield Poc AS, Oslo, Norway)을 사용하여 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)를 분리하고 400 X g 에서 25 분간 원심분리하였다. 상기 PBMC를 계면층에서 분리하였고, L-글루타민이 없는 RPMI 세척액 (Gibco™)으로 두 번 씻고, RPMIcm (RMPI 세척액 + 10% v/v 우태아 혈청 + 1 % 페니실린/스트렙토마이신 + 1% L-글루타민)에 재현탁하였다. RPMIcm를 사용하여 세포밀도를 $1x10^6$ 세포/ml로 조정하였다. 100 µl PHA ('렉틴(Lectin)', Sigma)를 상기 세포에 첨가하여 PHA 아세포를 만들었다. 세포를 37℃에서 5% CO_2에서 배양하였다.

실험 설정

다섯 가지 프로토콜을 하기와 같이 설정하였다:

1. 채취 후, 3, 4 및 5일째에, PHA 아세포를 적외선 광원, IR1072에 노출시켰다. 35 mm 배양 접시를 사용하여, 모든 세포를 적외선으로 단일 3분 처리하였다. 매일 처리 후, 개별적인 복제 세포 샘플을 5 일째에 % 세포 생존율에 대하여 분석하였다.

2. PHA 아세포를 3일 및 5일째에 IR1072 & IR880에 노출시켜 5 x 3 분 처리하고 5일째에 분석하였다. 매 처리 후 5일째에 세포 생존율 및 iNOS 발현을 결정하였다.

3. PHA 아세포를 1일째부터 매일 IR1072 및 IR880에 단일적으로 3분간 노출시켰다. 매일 광조사 후, 세포를 % 세포 생존율에 대하여 분석하였다.

4. PHA 아세포를 3일째에 IR1072에 4 x 3 분간 노출 처리하였고, 4일째에 단일적으로 3분간 노출 처리하였다. 다음 세포를 4 시간 방치한 후 UVA에 40 분간 노출시켰고, 그런 다음 세포 생존율을 결정하였다.

5. 세포를 조직 배양 튜브에서 3일째까지 배양하고 3일째에 다양한 파장 대역에 2 x 3 분간 노출시켰다. 파장대역은 IR660nm, IR880nm, IR950nm, IR1267nm, IR1O72nm, IR1072nm와 IR1268nm의 교번, IR1072 nm 와 IR1267nm, IR1072nm의 1 µs 펄스, 및 IR1072nm의 7 µs 펄스를 포함한다. 세포를 광조사 후 즉시 % 세포 생존율에 대하여 분석하였다.

사용된 모든 프로토콜에 대해 명백히, 모든 용기의 온도는 IR 및 대조군 처리를 통틀어 실온에서 유지되었다.

아넥신(Annexin) V 아포토시스 키트

아넥신 V 아포토시스 검출 키트 (Autogen Bioclear, UK)를 사용하여 세포 생존율을 분석하였다. 세포막에서의 포스파티딜세린 (PS) 위치 변화에 의해 아포토시스를 검출할 수 있다. 비-아포토시스성 세포에서, 대부분 PS 분자들은 세포막의

내부 층에 위치하나, 아포토시스 유도 직후에, PD는 세포막의 외부층으로 재분배된다. 노출된 PS는 아넥신 V로 쉽게 검출될 수 있다. 결합된 아넥신 V를 가진 세포는 세포막에서 녹색으로 염색된 자국을 나타내었다. 세포막 보존(integrity)을 상실한 세포는 세포질 전체를 통틀어 붉은 염색 자국 (PI) 및 세포 표면(세포막) 상에 녹색으로 염색된 자국 무리(halo)를 나타낸다. 용기당 $1x10^5$-$1x10^6$ 밀도의 세포를 세척하고 에세이 바인딩 버퍼(Assay Binding Buffer)에 재현탁시켰다. 5μl의 아넥신 V 및 10μl의 프로피디움 요오드 (PI)를 세포에 첨가한 후 어두운 상태에서 15-30 분간 실온에서 배양하였다. 형광 현미경을 사용하여 FITC 및 로다민을 위해 설정해 놓은 이중 필터하에서 세포를 관찰하고 적어도 두 관찰자에 의해서 브라인드(blind)로 계수하였다.

웨스턴 블랏팅 분석

해동된 세포 펠렛 현탁액을 다운스 (Dounce) 호모게나이저를 사용하여 얼음 위에서 균질화시켰다. 상기 세포 현탁액내의 단백질 수준은 우혈청 알부민을 표준물로 사용하는 로우리(Lowry) 분석으로 결정되었다. 단백질 수준을 10 μg으로 조절하고 단백질을 각 레인에 로딩하였다. 6% 폴리아크릴아마이드 겔을 사용하여 표준 전기영동을 시행하였다. 전기영동 후, 단백질을 니트로셀룰로즈 (NC) 막으로 2.5 시간 50V에 전이하였다. 상기 NC 막을 0.2% 트윈20 (Sigma, UK)을 함유하는 1 x 트리스 완충액 (TBS)에서 1시간 동안 실온에서 5% 탈지 분유로 차단하였다. 상기 NC 막을 일차 항체 iNOS (희석비 1:2500)로 밤새 4°C에서 배양하였다. 상기 NC 막을 세척액 (2.5% 탈지분유, 0.2% 트윈 20을 포함한 TBS)로 4 x 10 분 세척하고, 항-토끼 양고추냉이 페록시다제-결합(peroxidase-linked) 이차 항체 (희석비 1 : 2000)로 1 시간 배양하였다. 상기 NC 막을 세척액으로 4 x 10 분 세척하였다. 68mM 루미놀, 1.25mM p-쿠람 산 (couramic acid), 30% 과산화수소의 기질을 사용하여 상기 NC로부터 단백질 밴드를 가시화하였다. 면역 블랏을 필름 카세트에서 3 분간 Hyperfilm™에 노출시키고, 현상하고 실온에서 고정하였다. ImageQuant® 농도계 (densitometer)를 필름의 선형 범위(linear range)에서 사용하여 단백질 밴드를 정량화하여 상대적 iNOS 발현을 결정하였다. $p < 0.05$의 유의성을 가지는 다중 ANOVA를 사용하여 광학 밀도 값 (베타-액틴으로 표준화된)을 비교하였다. 데이터는 n=3 개체 반복 실험치로부터 얻어졌다.

통계

% 세포 생존율을 사용하여 아포토시스를 측정하였다, % 세포 생존율은 하기와 같이 정의된다.

% 세포 생존율 = [(생존 세포 수)/(전체 세포 수)] * 100

데이터는 평균 ± 표준 편차로서 주어진다.

대조군과 처리된 세포 간의 비교는 다중 ANOVA로 실시되고, 95%의 신뢰도를 가지고 평균 ± SD로 표시된다. 통계 분석은 프리즘 3.2(Prism 3.2)를 사용하여 수행되었다.

광원

880nm 및 1072nm 광원 둘 다 50nm 이하의 대역폭의 다중 모드 광을 방출하였고, 광 전력 5 mw/sq cm의 연속 모드였다.

인체 연구

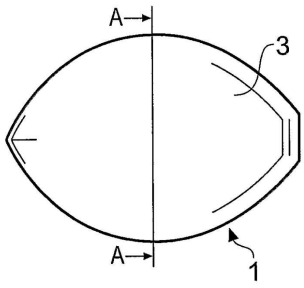
사용된 파장은 660nm 내지 1268nm 범위였고, 다양한 제한된 대역폭을 단독으로 및 조합하여 조사하였다.

일반 시민으로부터, 45세 내지 65세 사이의 38명의 여성 및 2 명의 남성으로 구성된 40명의 지원자를 채용하였다. 고정된 거리에서 일정한 조광 조건을 사용하여 각 개인을 사진 찍었다. 시각(views)은 다음과 같았다: 안면 중앙의 좌측부; 안면 중앙의 우측부; 안면의 좌측 측면; 및 안면의 우측 측면. 일정한 거리 및 조광으로, "이전" 및 "이후" 사진 간에 용이하게 직접적으로 비교할 수 있었다.

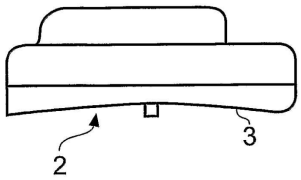
"이후" 사진을 찍을 때, "이전" 사진과 비교하여 눈을 유사한 정도로 뜨게 하는 것을 확실히 하였다. 이것으로 인해, 눈 위의 피부 겹치는 것과 눈 아래 주머니를 비교할 수 있게 되었다. 사진 찍을 때, 특히, 참가자들에게는 웃거나 안면 상에 어떤 표정도 짓지 않도록 요구하였다. 참가자들은 각각 작용 장치(active device)가 주어졌고 눈 주위를 매일 30분씩 (각 눈당 15분) 처리할 것을 요구받았다. 눈 주위의 피부가 더 변하기 쉽고 피부 탄력의 향상을 증명하기 더 용이하기 때문에 선택되었다.

도면

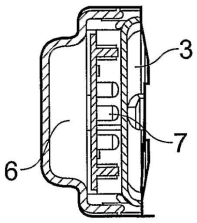
도면1a



도면1b

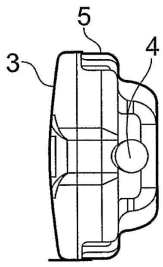


도면1c

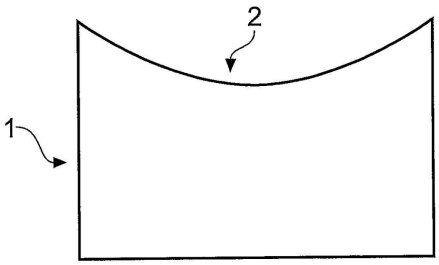


단면 A-A

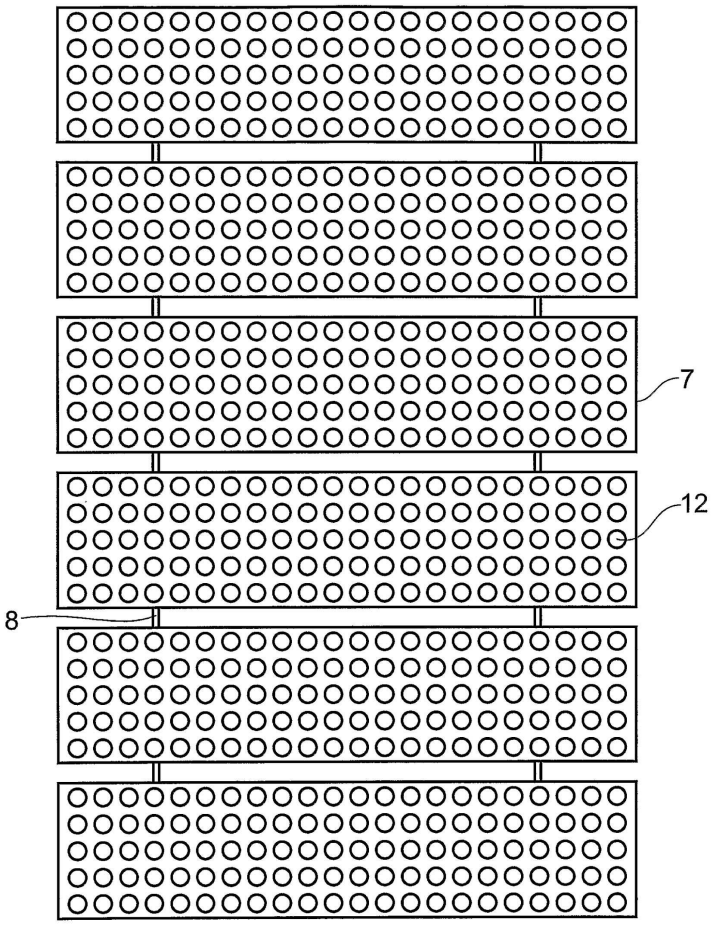
도면1d



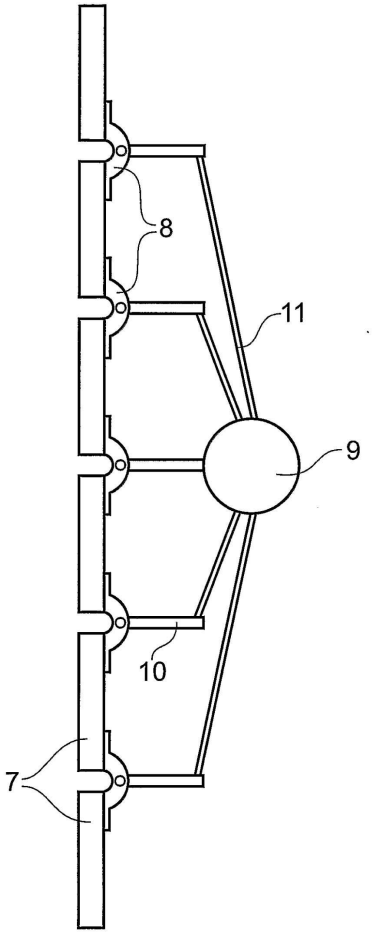
도면2



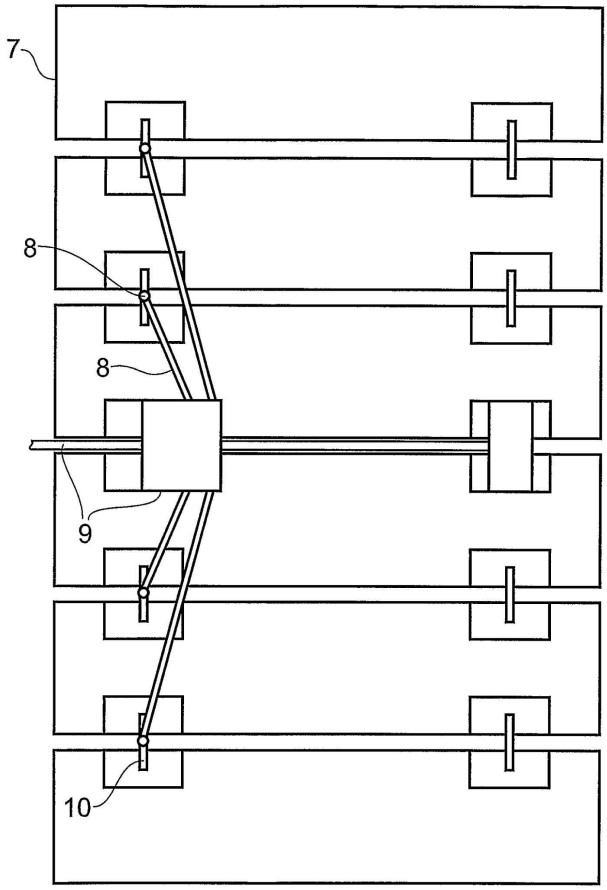
도면3



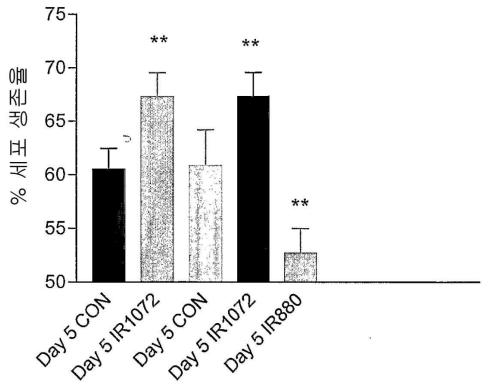
도면4



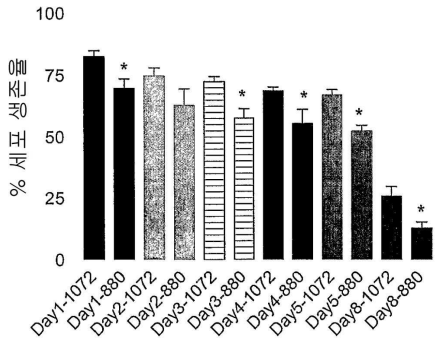
도면5


7
8
8
9
10

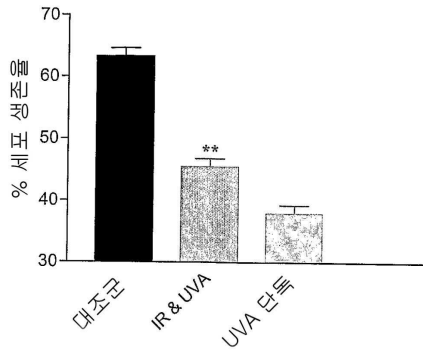
도면6


% 세포 생존율
75
70
65
60
55
50
**
**
**
Day 5 CON
Day 5 IR1072
Day 5 CON
Day 5 IR1072
Day 5 IR880

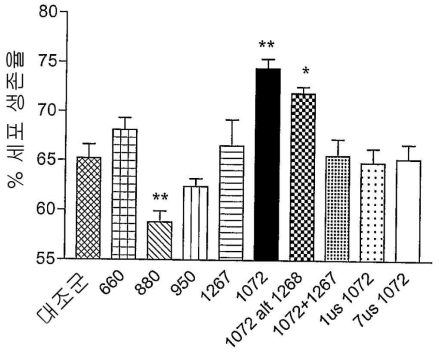
도면7



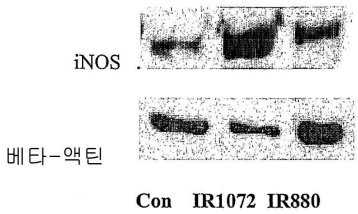
도면8



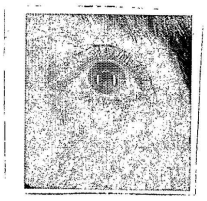
도면9



도면10



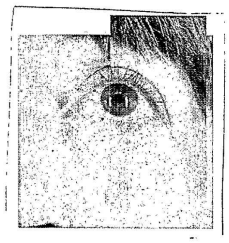
도면11a



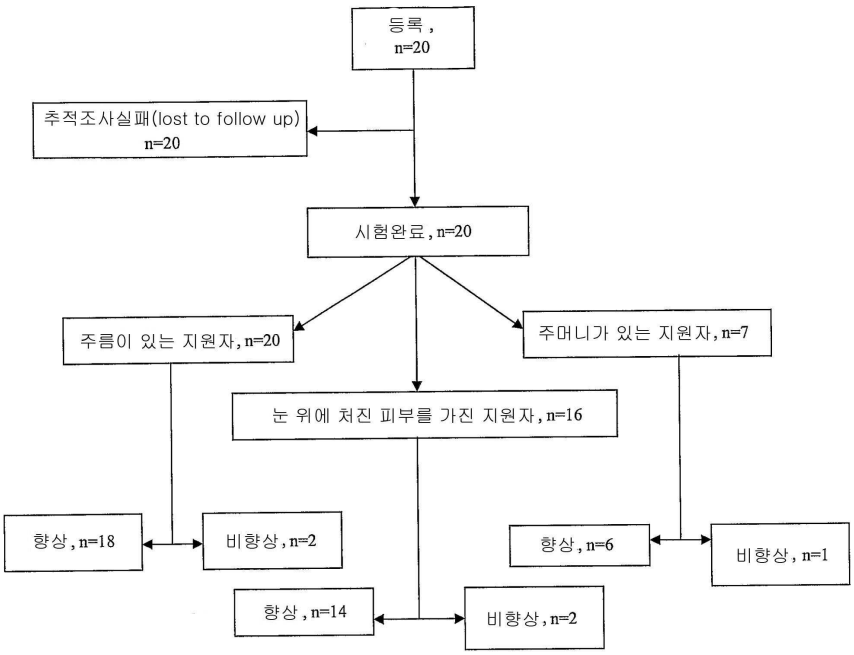
도면11b



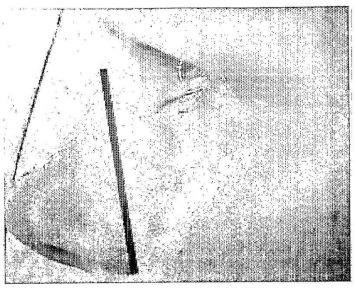
도면11c



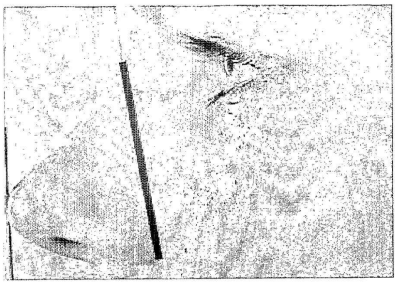
도면12



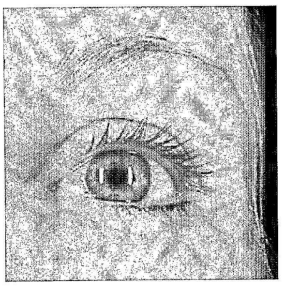
도면13a



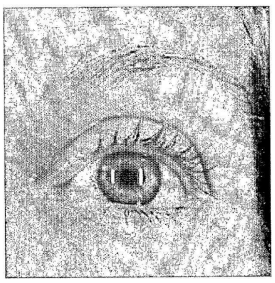
도면13b



도면14a



도면14b



도면14c

