

동해 오징어 (*Todarodes pacificus*) 껍질 유래 콜라겐의 UV 보호능 및 미백효과

권민철 · Syed Abdul QADIR · 김호성 · 안주희 · 조남현¹ · 이현용*
 강원대학교 BT 특성화학부대학 / 강원대학교 생명공학연구소, ¹휴덤식품

UV Protection and Whitening Effects of Collagen Isolated from Outer Layer of the Squid *Todarodes pacificus*

Min Chul KWON, Syed Abdul QADIR, Hyo Sung KIM, Ju Hee AHN,
 Nam Hyun CHO¹ and Hyeon Yong LEE*
 College of Bioscience and Biotechnology, Kangwon National University,
 Chunchon 200-701, Korea
 Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Kangwon National University,
 Chunchon 200-701, Korea
¹Hudem Food Company, Kangneung 200-801, Korea

To develop a whitening agent, cytotoxicity of the soluble collagen isolated from *Todarodes pacificus* (CIT) was evaluated. CIT tested for cytotoxicity on human dermal fibroblast (CCD-986sk) was exhibited very low cytotoxicity. Because tyrosinase is the key enzyme for melanin biosynthesis, the use of various tyrosinase inhibitors is a common practice for whitening purpose in cosmetics. Tyrosinase inhibitory activity and melanin production assay were measured to confirm the whitening effect. The inhibitory effect of MMP-1 in UV-irradiated human dermal fibroblast was also performed. CIT showed strong inhibition potency on tyrosinase by 51.5% at 0.2 mg/mL which increased the inhibition by increasing the concentration of CIT, and showed 69.1% inhibition at 1.0 mg/mL. CIT showed strong inhibition effect on melanin production with 82% at 1.0 mg/mL. The CIT also reduced about 76% expression of MMP-1 in UV-irradiated CCD-986sk cell at 1.0 mg/mL. From the preliminary observations, we suggest that the collagen isolated from CIT could be a potential source of natural skin-whitening and anti-aging agents for the photo-damaged skin.

Key words: *Todarodes pacificus*, Collagen, MMP-1, Tyrosinase

서 론

오징어의 어획량은 2006년 138,000 톤으로 2005년 45,000 톤보다 3배 정도 늘어났으며 이 중에서 가공원료로 이용되는 것은 총 공급량의 90%에 미치지 못하며 내장 및 껍질 등의 부산물들은 일부가 사료로 이용되고 있을 뿐 적절한 활용의 방안을 찾지 못하여 대부분이 폐기된다 (Kim et al., 2004). 일반적으로 수산 가공 공장에서 원료어를 처리할 때 육은 채취한 다음 부산물로 얻어지는 어체의 두부, 껍질, 내장 뼈 등의 잔사가 전어체의 절반 이상을 차지한다. 이중 어류 뼈나 어류 껍질에는 다량의 콜라겐이 함유되어 있는데, 본 연구에서는 수산 가공 부산물인 어류 껍질, 특히 콜라겐 함량이 높은 *Todarodes pacificus*의 껍질에서 콜라겐을 추출하여 향장 가능성을 살펴보았다. 일반적으로 콜라겐은 피부의 탄력을 유지시키고, 잔주름을 예방하며, 특히 피부의 수분 보유력을 높이는 기능이 있어 화장품 기초 재료로써 널리 사용되고 있으며, 특히 천연의 것으로 생체와 접합 시 면역학적 반응이 적어 의술용으로도 널리 사용되고 있다 (Cui et al., 2005). 현재 널리

사용되고 있는 콜라겐은 주로 송아지 껍질에서 얻어지고 있는데, acid soluble의 양은 신선한 가죽 1 kg에서 12 g밖에 얻을 수 없으며, 동물이 도살된 후, 무두질 과정 등 전처리 과정이 복잡해서 콜라겐을 추출하는 비용이 많이 들며, 또한 신선한 콜라겐을 얻는 데는 많은 시간이 경과함을 알 수 있다 (Park, 2000). 이 문제의 해결을 위하여 기존 연구에서 수산물 가공 부산물을 이용하여 피부 미백 및 노화 방지 및 생체 내에서의 콜라겐 합성 시 효과적으로 작용하는 ascorbic acid와 citric acid 용액을 이용해서 콜라겐 함량이 많은 catfish 껍질에서 수용성 콜라겐 액을 추출하는 연구도 행해진 바 있다 (Jung et al., 2000). 피부 노화는 세월이 흘러감에 따라 피할 수 없는 노화 현상이 내인성 노화 (intrinsic aging)와 외적 노화 (extrinsic aging)로 구분되는데 외적노화는 자외선 같은 여러 가지 환경 요소에 영향을 받기 때문에 인위적인 조절이 비교적 용이하다 (Gilchrest, 1989). 일반적으로 진피층의 약 90%를 차지하고 있는 콜라겐은 피부에 강도와 장력을 부여하여 외부의 자극이나 힘으로부터 피부를 보호하는 역할을 한다. 따라서 피부 내 콜라겐의 감소는 피부의 노화와 매우 밀접한 관계를 가지고 있다 (Huang et al., 1997). 피부는 자외선 등 외부의 스트레

*Corresponding author: hyeonl@kangwon.ac.kr

스나 내부의 산화적 손상에 의해 피부를 구성하는 기질 물질인 콜라겐이 분해가 된다. 콜라겐 분해가 진행됨에 따라 주름이 깊어지고 탄력이 감소되어 피부가 처지거나 표면이 거칠어지는 양상을 보인다 (Gilchrest, 1989). 따라서 콜라겐을 분해하는 효소 (matrix metalloproteinases: MMPs)의 생합성을 억제하거나 활성을 저해하는 방식 혹은 항산화, 항노화 물질을 이용하여 피부 세포를 보호하려는 노력을 하고 있다 (Bernstein and Chen, 1994). 피부 표면의 각질은 일정한 재생주기에 따라 각질층 바깥에서부터 탈락이 이뤄지는데 피부 수분이 부족하거나 각질층 내 지질합성에 이상이 생겨 생리활성 인자들의 활성이 원활하지 못할 경우 각질이 탈락되지 않아 각질세포가 쌓이게 된다. 따라서 피부 표면의 각질들이 감소하였다는 증거는 피부 보습 및 장벽기능이 정상화 되었다는 것을 의미하게 된다 (Serup, 1995). 이외에도 피부 노화가 진행됨에 따라 피부 두께가 얇아지고, 자외선 조사에 의해 기미나 검버섯 등 멜라닌이 각질세포로 올라오게 되므로 피부색이 칙칙하고 어두워지게 된다. 이러한 변화를 통해 피부의 연령 및 노화의 정도를 유추할 수 있으므로 피부의 생리학적 관찰을 하는데 중요한 지표가 될 수 있다 (Peter, 1994). 또한 자외선에 노출이 심하게 되면 melanin 색소가 피부에 과다하게 침착되어 피부노화나 피부손상을 초래하게 된다 (Park and Kim, 1995). 최근 이러한 피부 노화 방지와 억제를 위해 또는 손상된 피부를 회복시키기 위해 melanin 색소의 생성을 억제하는 물질에 대하여 관심이 증가되고 있으며 melanin 색소의 생성을 막기 위하여 tyrosinase에 대한 활성을 검정하였다. Tyrosine으로부터 melanin의 생합성에서 가장 중요한 단계는 tyrosinase의 촉매작용을 통하여 일어나는 초기 반응 (Hearing and Tsukamoto, 1991)으로서 tyrosine의 hydroxyl기를 부착시켜 3,4-dihydroxy phenylalanine (DOPA)를 생성한다 (Jimenez-Cervantes et al., 1994). 이에 따라 이 반응을 억제 하게 되면 melanin 생합성을 억제할 수 있다. 이로써 tyrosinase가 melanin 생합성 과정에서 중요한 역할을 한다고 할 수 있다. 이에 따라 본 연구진도 새로운 tyrosinase 억제 활성 검증과 UV에 대한 오징어 유래 콜라겐의 효과를 검증하고 총체적인 피부 미백효과를 알아보기 위하여 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

시료의 추출 및 분리

수용성 콜라겐은 Jung이 사용한 방법 (Jung et al., 2000)으로 분리하였다. 재료는 국내 동해에서 어획한 오징어 (*Todarodes pacificus*)를 살아있는 상태에서 fillet을 뜨고 남은 부분인 skin을 채취하였다. 1차로 시료를 찬물에 녹여 3% H₂O₂, 0.1 N NaOH 용액에 20%의 시료를 넣고 비 콜라겐 물질을 없애고 증류수에 citric acid와 ascorbic acid를 가용화하여 변성점 이하의 온도에서 콜라겐 액을 제조한 후 동결하여 보관하였다.

세포 및 시약

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)를 위해 사용된

MMP-1에 대한 1차 항체와 alkaline phosphatase가 결합된 2차 항체는 Sigma Chemical사로부터 구입하여 사용하였다. Human dermal fibroblasts (HDFs)는 CCD-986sk으로 한국세포주은행 (KCLB)로부터 동결 상태로 구입하였다. 또한 melanocyte인 Clone-M3 (KCLB No. 10053.1)도 한국세포주 은행으로부터 동결상태로 구입하였다. 한국세포주은행으로부터 구입한 HDF와 Clone-M3 cell을 각각 DMEM와 RPMI1640 배지에 10% fetal bovine serum (FBS, Hyclone), 1% penicillin-streptomycin을 첨가하여 37°C, 5% CO₂ 조건하에서 배양하여 사용하였다. 그 외 실험에 사용된 모든 시약들은 Sigma Chemical사에서 구입하여 사용하였다.

세포 독성 측정

세포 독성은 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT) 시약을 이용하여 세포 생존율을 측정하는 Mosmann방법 (Mosmann, 1983)을 변형하여 실시하였다. CCD-986sk 세포를 2×10⁴ cells/well 농도로 96-well plate에 접종한 후 각 well에 시료를 투여하여 CO₂ 배양기에서 24시간 배양하였다. MTT 용액 (5 μg/mL)을 첨가하고 4시간 후 원심 분리하여 상층액을 제거하고 10 μL의 0.04 N HCl/ isopropanol을 첨가한 후 푸른색의 formazan이 용출되도록 하여 micro plate reader로 565 nm에서 흡광도를 측정하였다.

UVA 처리를 이용한 MMP-1 발현 저해 측정 (ELISA법)

CCD-986sk를 1.5×10⁵ cells/mL의 농도로 35 mm dish에 약 80%의 confluency에 도달할 때까지 배양하였다. UV 조사 전에 원배지를 제거한 후 PBS로 세척하여 배지 내 serum 성분을 제거한 다음 UV 등 (Coralife, 35W, UV)에 필터를 이용하여 UVA (6.3 J/cm²)를 24시간 조사하였다. UVA 조사 후 배양배지는 FBS를 첨가하지 않은 DMEM 배지에 오징어 유래 콜라겐 추출물을 1 mg/mL의 농도로 투여하여 24시간 배양하였다. UVA 조사에 의해 유도되는 MMP-1 발현량 측정은 Dunsmore 등이 사용한 방법 (Dunsmore et al., 1996)을 실시하였다. UVA를 조사 후 시료를 처리하여 24시간 배양한 배지를 96 well plate에 분주하여 4°C에서 overnight하여 반응하였다. TBS (phosphate buffered saline+0.05% Tween 20)로 3회 세척하고 3% PBS로 37°C에서 1시간 동안 blocking 한 후, 1차 항체 (monoclonal anti-MMP-1 antibody)를 blocking buffer로 1:3,000으로 희석하여 처리하고 37°C에서 90 min간 반응시켰다. PBS로 세척한 다음 2차 항체 (alkaline phosphatase conjugated Goat anti-mouse IgG)를 blocking buffer에 1:3,000으로 희석하여 처리하고, 37°C에서 90분간 반응시킨 후 PBS로 세척한 다음 alkaline phosphatase 기질용액 (1 mg/mL, p-mitrophenyl phosphate in diethanolamine buffer)을 첨가하여 실온에서 30분간 반응시켰다. 3 N NaOH로 반응을 완전히 중지시킨 후 micro plate reader를 사용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Tyrosinase 억제 효과 탐색

Tyrosinase 억제 효과는 dopachrome방법을 이용하여 측정

하였다. 150 μ L의 mushroom tyrosinase-150 unit (Sigma Chemical Co.), 225 μ L (2.5 μ M)의 L-tyrosine, 225 μ L의 0.4 M HEPES buffer (pH 6.8), 그리고 300 μ L의 ethanol 용액 혹은 시료 (1 mg/mL)용액을 섞은 후 배양전과 15분간 배양을 한 후 475 nm에서 흡광도를 각각 측정하여 억제되는 정도를 살폈다. Tyrosinase의 억제정도는 다음과 같이 측정하였다.

$$\text{Tyrosinase inhibition (\%)} = \frac{(D-C)-(B-A)}{(D-C)} \times 100$$

A와 B는 각각 시료를 가지는 용액의 배양 전과 배양 후의 흡광도이며, C와 D는 각각 시료를 넣지 않은 용액 (기준 용액)의 배양전과 배양 후의 흡광도이다. 이들 tyrosinase 억제효과는 100으로 나타날 때 완전한 억제를 의미하며, 0일 때 전혀 억제를 하지 못하는 것을 의미한다.

Clone-M3 세포로부터 멜라닌 생성량 측정

쥐 유래 melanocyte인 Clone-M3 세포는 멜라닌을 생성한다 (Choi et al., 2006). Melanin은 표피 기저층에 존재하는 melanocyte내의 소기관인 melanosome에서 생합성되며 이는 가시광선 영역대의 흡광도를 측정함으로써 melanin의 생성량을 비교할 수 있다 (Lim et al., 2006). 따라서 본 연구에서는 Clone-M3 세포 접종 후 3일간 시료 처리 후 배지를 제거하고 세포를 PBS로 세척 후 각 well 당 1mL의 1 N NaOH를 가하고 교반하여 세포막을 용해하여 멜라닌 성분을 녹여 나오게 하여 가시광선 영역대 중 가장 파장이 짧은 푸른색의 가시광선 영역인 400 nm에서 흡광도를 측정하여 생성량을 비교하였다.

통계

SPSS package program의 paired T-test로 검정하였으며 모든 data는 평균 \pm 표준오차 (mean \pm standard error)로 나타내었다.

결과 및 고찰

추출 수율

1차 비 콜라겐 물질의 제거 후 단백질수율은 89.4%의 높은 수율을 나타냈으며 2차 비 콜라겐 물질의 제거 후 단백질수율은 81.3%로 높은 수율을 나타냈다. 이는 송아지 가죽에서 분리하는 방법에 비하여 월등히 높은 방법이며 기존 연구 (Jung et al., 2000)인 수산 가공 부산물인 어피에서의 수율 81.7%와 비슷한 수준으로 고품질 콜라겐 향장제품의 가공 원료로서 높은 가능성을 보여주었다.

세포 독성 측정

오징어 껍질 유래 콜라겐을 0.1 mg/mL에서 1.0 mg/mL까지 다양한 농도로 처리하고, 48시간 배양한 후 MTT방법으로 세포의 생존율을 관찰하였다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 최고 농도인 1.0 mg/mL의 농도에서 대조군과 뚜렷한 차이가 나타나지 않았으며 최저농도인 0.2 mg/mL에서도 유의적인 차이를 보이지 않았다. 또한 세포의 형태학적 변화를 20일 동안 관찰한 결과 Fig. 3에 나타난 바와 같이 최고농도 1.0 mg/mL의 콜라겐 처리군과 비처리군에서 유의할만한 차이를 보이지

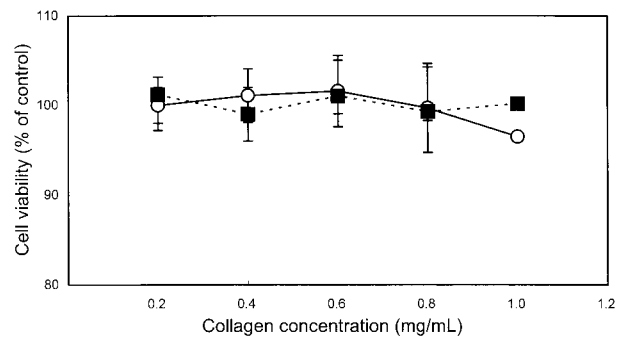


Fig. 1. The effect of commercial collagen (type I) and collagen isolated from *Todarodes pacificus* (CIT) on the viability of human dermal fibroblast (CCD-986sk). The results were expressed as the average of triplicate samples. The values represent the mean \pm SD. Symbol \bullet represents collagen type I. Symbol \blacksquare represents CIT.

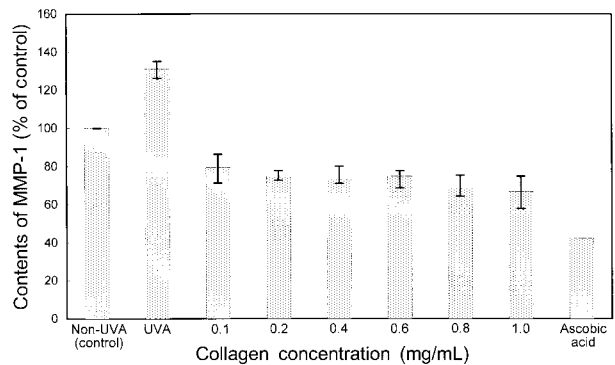


Fig. 2. Effect of collagen isolated from *Todarodes pacificus* on the production of MMP-1 in UVA-irradiated human dermal fibroblast (CCD-986sk). The results were expressed as the average of triplicate samples. The values represent the mean \pm SD.

않았다. 이와 같은 결과는 세포수준에서 콜라겐은 전혀 독성을 나타내지 않는 것으로 해석할 수 있으며 기존의 콜라겐은 생체외의 접촉 시 면역학적으로 부작용이 적다는 것을 뒷받침하는 결과이다 (Cui et al., 2005).

UVA 처리를 이용한 MMP-1 발현 저해 효과

피부의 광손상에 있어 중요한 역할을 담당하고 있는 MMP-1의 발현은 UVA에 의해 세포에서 JNK/p38 활성도가 증가하고 전사인자인 AP-1의 활성도가 증가되는 신호전달 경로를 통해 MMP-1 발현을 증가시켜 피부에서 교원질의 결핍을 초래한다고 알려져 있다 (Chun et al., 2000). 이러한 UVA에 의해 발현이 증가되는 MMP-1에 미치는 오징어 껍질 유래 콜라겐의 영향을 알아보려고 HDFs에 UVA를 조사하고 시료를 첨가하여 24시간 배양한 후 MMP-1 발현 저해 효과를 ELISA로 측정하였다. 그 결과 시료를 첨가하는 농도 의존적으로 MMP-1 발현 저해율이 높아져 최고 농도인 1.0 mg/mL에서 control 대비 74.7%를 보임으로써 UVA에 대한 효과가 있음을

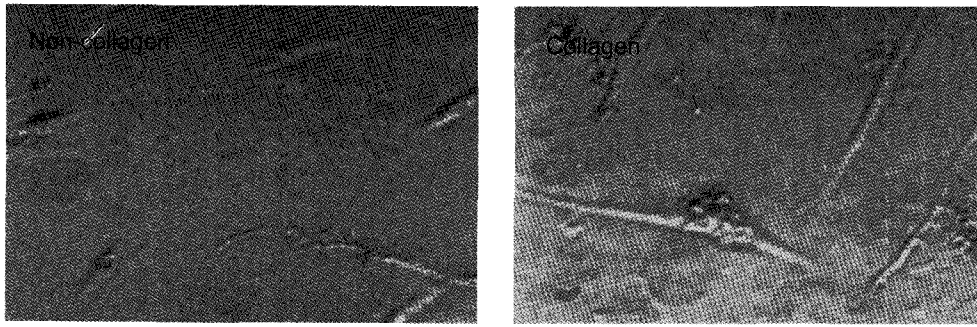


Fig. 3. Comparison of cell morphology in dermal fibroblast cells (CCD-986sk) with collagen (1.0 mg/mL) isolated from *Todarodes pacificus* and non-collagen at 20th day.

나타내었다. 또한 본지에서 행한 다른 실험과는 달리 0.1 mg/mL의 농도에서도 그 효과가 79.1%로 나와 낮은 농도에서도 효과가 있음을 알 수 있다. 양성대조군으로 사용한 ascorbic acid의 경우 0.2 mg/mL의 농도에서 42.5%의 효과를 보였다. 0.6 mg/mL의 농도의 결과가 0.4 mg/mL의 농도의 결과와 비슷하게 나온 경우를 제외한다면 농도 의존적으로 저해능이 증가하며 이는 나타낸 오차 범위에서 유효한 농도의존적인 결과라고 해석된다. 이는 교원질 파괴를 담당하는 외부적 스트레스인 UVA에 의해 발생된 유해 인자를 효과적으로 제거함으로써 MMP-1의 발현을 효과적으로 조절한 것이라 사료된다. 이번 실험의 결과는 이전 콜라겐 I 타입에 노출된 세포주의 성장을 촉진시켜 분화하는 속도를 빠르게 한다는 결과[18]를 보충 해줄 수 있는 결과이며 진피 세포에 대한 직접적 처리가 UV로부터 야기되는 교원질의 파괴를 막아주며 이로써 진피 세포가 콜라겐에 노출되면 MMP-1의 발현이 비활성화 되어 교원질의 파괴를 감소시킨다는 사실을 확인할 수 있었다. 현재까지 밝혀진 MMP 저해제로 metalloproteinases-2 (TIMP-2) 조직 저해제가 있는데, 기질 세포에서 분비되며 기능은 MMP 수용체에 경쟁적으로 결합하여 MMP의 활성화를 막음으로 단백질 분해능이 떨어진다. 향후 항장소재 중 피부의 교원질 층의 붕괴로 인한 주름살의 치료에 중요한 실마리를 제공할 수 있을 것이다.

Tyrosinase 억제 효과

멜라닌은 피부에서 세포내의 tyrosinase라는 효소의 생합성 과정에서 만들어지며 (Invergar and McEvily, 1992), 자외선, 건조, 극한 온도 등에 대한 피부의 저항력을 높여주지만, 과도한 멜라닌 생성은 인체에 기미, 주근깨, 검버섯 등과 같은

색소 침착을 일으키고, 피부의 손상을 촉진시킨다. 그러므로 화장품 산업에서 미백효과를 측정하는데 매우 중요한 부분이 된다. 본 연구에서는 오징어 껍질로부터 분리한 콜라겐의 tyrosinase에 대한 작용을 알아보려 시료를 1.0 mg/mL의 농도로 첨가 했을 때의 저해율을 대조군 대비로 Table 1에 나타내었다. 송아지 유래 콜라겐 type 1의 경우 최고 농도인 1.0 mg/mL에서 72%의 저해율을 보였으며 CIT의 경우 69%로 두 콜라겐의 tyrosinase 저해에 관한 효과에서 CIT가 3% 차이의 유의점을 확인할 수 있었다. 이는 소로부터 분리한 콜라겐보다 약산에 수용성인 오징어 껍질에서 유래한 콜라겐이 미백 효과가 더 뛰어난 의미를 시사하며 생산성과 광우병으로 인한 안정성 등을 고려한 새로운 콜라겐원이 될 수 있으리라 사료된다. 한편, 기존 tyrosinase 저해활성은 페놀함량과 항산화 효과와 상관관계가 있는데 (Ra et al., 1997), 본 연구에서는 페놀 함량이 적을 것으로 예상되는 콜라겐 성분에서 저해활성이 높게 나왔다. 이는 오징어에서 추출한 콜라겐과 기존의 상업용으로 쓰이는 우피 콜라겐과의 유효한 차이로서 오징어 콜라겐의 상업적 이용에 대한 고려가 요구된다.

멜라닌 생성량 측정

Clone-M3 세포주의 멜라닌 생성세포로서 추출물 투여 시 멜라닌 생합성과 세포 생존율에 미치는 영향을 알아보기 위하여 0.2, 0.4, 0.8 mg/mL과 최고농도인 1.0 mg/mL의 농도로 3일간 처리하였다. 연구 결과 세포생존율과 형태학적 변화 없이 멜라닌 생성률을 오징어 유래 콜라겐의 경우 0.2 mg/mL의 농도부터 1.0 mg/mL의 농도 까지 각각 99.6%, 89.1%, 86.1%, 84.1%, 82.5%까지 저해하였다. 대조군인 ascorbic acid 최저농도인 0.2 mg/mL의 농도에서 90.7%로 CIT와 시판 콜라

Table 1. Inhibitory effects of collagen isolated from the *Todarodes pacificus* against the in vitro melanin synthesis by tyrosinase. The CIT is collagen isolated from *Todarodes pacificus*. Each data represents mean±SE (n=6). Significant differences from extracts are indicated by *p<0.05, **p<0.01 and ***p<0.001

Samples	Inhibition effect (%)				
	0.2 mg/mL	0.4 mg/mL	0.6 mg/mL	0.8 mg/mL	1.0 mg/mL
Collagen type 1	61.5±0.40*	64.8±0.10*	70.0±0.50**	71.7±0.06**	72.1±0.06**
CIT	51.5±0.21***	58.7±0.20*	66.4±0.4*	68.4±0.06*	69.4±0.60*
Ascorbic acid	68.1±0.30*	68.7±0.21***	69.4±0.30**	70.1±0.30*	70.8±0.30*

Table 2. Effects of collagen isolated from *Todarodes pacificus* (CIT) on melanin production in Clone-M3 cells. Melanin content of vehicle was set to 100%. Each value was expressed as mean±SD (n=3). The CIT is collagen isolated from *Todarodes pacificus*

Samples	Concentrations (mg/mL)	Melanin production (%)
CIT	0.2	99.6±0.7
	0.4	89.1±1.1
	0.6	86.1±3.5
	0.8	84.1±4.6
	1.0	82.5±0.9
Collagen type 1	0.2	99.7±2.0
	0.4	90.7±4.0
	0.6	87.5±4.0
	0.8	85.1±3.7
	1.0	84.0±2.2
Ascorbic acid	0.2	90.7±0.6
	0.4	90.0±2.5
	0.6	87.5±3.7
	0.8	86.7±2.1
	1.0	86.7±1.8

겐인 type 1 콜라겐보다 긍정적 효과를 나타내었으나 0.6 mg/mL부터 최고농도인 1.0 mg/mL까지의 효과가 저조하여 최고 86.7%로 CIT와 시판 품에 비하여 미미한 결과를 나타내었다. 이 결과는 멜라닌 생성은 줄이면서 세포독성은 낮아야 하는 항장미백제로의 기준에 오징어 유래 콜라겐이 부합하는 것으로 판단되어진다. 이는 100종의 국산 식물을 분획하여 멜라닌 생성량을 측정된 기존의 연구 결과(Kim et al., 2006)보다 향상된 활성을 나타내는 결과이며 대조물질로써 사용된 ascorbic acid보다 높은 멜라닌 생성 저해율은 천연의 새로운 천연 미백 활성소재로의 활용 가능성을 보여주었다.

사 사

본 연구는 산업자원부 지방기술혁신산업 (RTI05-01-02) 지원으로 수행되었음.

참 고 문 헌

Kim, J.H., H.Y. Seo and K.S. Kim. 2004. Analysis of radiolytic products of lipid in irradiated dried squids (*Todarodes pacificus*). J. Food Prot., 67, 1731-1735.

Cui, X., J. Bai, X. He and Y. Zhang. 2005. Western blot analysis of type I, III, V, VI collagen after laser epithelial keratomileusis and photorefractive keratectomy in cornea of rabbits. Yan Ke Xue Bao. 21, 141-148.

Park, U. 2000. Unpigment fish particularly from flat fish as a novel industrial source of collagen and biomaterial thereby obtained. J. Chromatogr., 1054A, 227-233.

Jung, M.S., B.S. Yoon and H.J. Lim. 2000. Study on the soluble collagen extraction from the remain after fillet. Han Lim Technol. Res., 32, 120-195.

Gilchrest, B.A. 1989. Skin aging and photoaging. J. Am. Acad. Dermatol., 21, 601.

Huang, C., W.Y. Ma, M.I. Dawson, M. Rincon, R.A. Flavell and Z. Dong. 1997. Blocking activator protein-1 activity, but not activation retinoic acid response element, is required for the antitumor promotion effect of retinoic acid. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94, 5826.

Bernstein, E.F. and Y.Q. Chen. 1994. Enhanced elastin and fibrillin gene expression in chronically photo-damaged skin. J. Invest. Dermatol., 103, 182-186.

Serup, J. 1995. Non-invasive Methods and the Skin. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 546-548.

Peter, T.P. 1994. Physiology of the Skin. Allured Publishing Corporation. Carol Stream, Illinois, USA. 34-39.

Park, Y.H. and M.R. Kim. 1995. A study on the tyrosinase inhibitor from mushroom *Phellinus ribis*, Soon-chunhyang J. Nat. Sci., 1, 183-188.

Hearing, V.J. and K. Tsukamoto. 1991. Enzymatic control of pigmentation in mammals. FASEB J., 5, 2902-2909.

Jimenez-Cervantes, C., F. Solano, T. Kobayashi, K. Urabe, V. Hearing, J. Lezano and J.C. Garcia-Gorreni. 1994. A new enzymatic function in the melanogenic pathway. J. Biol. Chem., 269, 17993-18000.

Mosmann, T. 1983. Rapid colorimetric assay for the cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxic assay. J. Immunol. Methods, 65, 55.

Dunsmore, S.E., J.S. Rubin, S.O. Kovacs, M. Chedid, W.C. Parks and H.G. Welgus. 1996. Mechanisms of hepatocyte growth factor stimulation of keratinocyte metalloproteinase production. J. Biol. Chem., 271, 24576.

Choi, S.Y., J.S. Hwang, S. Kim and S.Y. Kim. 2006. Synthesis, discovery and mechanism of 2,6-dimethoxy-N-(4-methoxyphenyl)benzamide as potent depigmenting agent in the skin. Biochem. Biophys. Res. Commun., 349, 39-49.

Lim, E., J. Browning, D. MacGregor, I.D. Davis and J.S. Cebon. 2006. Desmoplastic melanoma: comparison of expression of differentiation antigens and cancer testis antigens. Melanoma Res., 16, 347-355.

Chun, J.H., S.W. Kang, J. Varani, J. Lin, G.J. Fisher and J.J. Voorhees. 2000. Decreased extracellular-signal regulated kinase and increased stress-activated MAP kinase activities in aged human skin in vivo. J. Invest. Dermatol., 115, 177-182.

Kim, J.S., J.D. Kim, M.J. Kang, H.Y. Ahn and D.J. Kim.

2000. Collagen-induced activation of MMPs (Membrane-type matrix metalloproteinase and matrix metalloproteinase-2 in ovarian cancer cell lines in vitro. J. Kor. Soc. Obstet. Gynecol., 43, 1972-1978.
- Invergar, R. and A.J. McEvily. 1992. Studies on biological activity from extract of *Crataegi fructus*. Kor. J. Herb., 17, 29-38.
- Ra, K.S., H.J. Suh, S.J. Chung and J.Y. Son. 1997. Antioxidant activity of solvent extract from onion skin. Kor. J. Food Sci. Technol., 29, 595-600.
- Kim, D.S., Y.M. Jeong, I.K. Park, H.G. Hahn, H.K. Lee, S.B. Kwon, J.H. Jeong, S.J. Yang, U.D. Sohn and K.C. Park. 2006. Light-activated indole-3-acetic acid induces apoptosis in g361 human melanoma cells. Biol. Pharm. Bull., 29, 2404-2409.

2007년 3월 13일 접수
2008년 2월 13일 수리