

Original Article / 원저

홍삼과 어유(魚油) 복합식이에 의한 UV-유도 광노화 억제효과

문연자^{1,4} · 전병국¹ · 김태현² · 이진호¹ · 최형욱² · 임규상^{2,4} · 우원홍^{3,4}

¹ 원광대학교 한의학전문대학원 한약자원개발학과 BK21팀

² 원광대학교 한의학전문대학원 한약자원개발학과

³ 원광대학교 한의과대학 해부학교실

⁴ 원광대학교 한국전통의학연구소

Protective Effects of Complex Diet of Korean red ginseng and fish oil on UV-induced Photoaging

*Yeun-Ja Mun^{1,4} · Byoung-Kook Jeon¹ · Tae-Hyun Kim² · Jin-Ho Lee¹ · Hyung-Wook Choi² ·
Kyu-Sang Lim^{2,4} · Won-Hong Woo^{3,4}*

¹ BK21-plus Team, Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University

² Department of Herbal Resources, Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University

³ Department of Anatomy, College of Oriental Medicine, Wonkwang University, 570-749, Iksan, Republic of Korea

⁴ Research Center of Traditional Korean Medicine, Wonkwang University

Abstract

Objective : UV irradiation causes skin-aging involving coarse wrinkles, thickening, dyspigmentation, and rough skin surface. This study was aimed to elucidate the anti-winkle activity of complex diet of Korean red ginseng (RG) and fish oil (FO) on UV-induced Photoaging.

Methods : To investigated photo-protective effects of Korean red ginseng and fish oil on UV-induced damaged skins, SKH hairless female mice were randomly divided into six groups [control, UV, UV/RG, UV/FO, UV/RG/FO(low), UV/RG/FO(high)] and orally administered three times a week respectively. UV radiation was applied to the backs of the mice three times a week for 8 weeks. Expressions of matrix metalloproteinase (MMP)-3, MMP-13 and tissue inhibitor matrix metalloproteinase (TIMP)-1 in skin were measured by immunohistochemical staining.

© 2014 the Society of Korean Medicine Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology

This is an Open Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Results : In this study, UVB-induced epidermal hypertrophy was diminished by RG group or FO group or complex group of RG and FO. Expression levels of MMP-3 and MMP-13 were reduced and expression level of TIMP-1 was increased by RG group or FO group or complex group of RG and FO. Especially MMP-3 and MMP-13 were markedly reduced by diet of FO and complex diet of RG and FO compared with untreated group.

Conclusions : This results suggest that complex diet of RG and FO have a anti-wrinkle activity on UV-induced photo-aging and intrinsic aging.

Key word : Korean red ginseng (RG); Fish oil (FO); MMP-3; MMP-13; TIMP-1

1. 서 론

피부노화는 내인성 노화와 광노화로 나눌 수 있다. 내인성 노화의 임상적 특징은 비교적 경미하며, 잔주름, 피부건조증, 탄력감소 등을 들 수 있고, 광노화의 경우 내인성 노화에 비하여 깊고 깊은 주름이 발생하며 잔주름도 많이 발생하고 일찍부터 관찰되는 특징을 가지고 있다^{1,2)}. 세포외기질(extracellular matrix, ECM)의 주요 구성 성분인 collagen은 진피 섬유성분의 90%를 차지하고 있으며, 섬유아세포에 의해 합성된다. Collagen의 주된 기능으로는 피부의 기계적 견고성, 결합조직의 저항력과 조직의 결합력, 세포 접착, 세포 분화와 분화 유도 등이 알려져 있으며³⁾, 피부를 비롯하여, 골, 인대, 연골 및 치아 등에 높은 농도로 존재하고 트립신과 같은 단백질 분해효소의 작용을 받지 않으나 collagenase에 의해 분해된다^{4,5)}. 광노화로 인한 피부 주름은 진피의 collagen을 포함한 결합조직 성분을 분해하는 MMPs(matrix metalloproteinases)의 활성이 증가하여 피부조직 내의 collagen 함량이 저하되기 때문이며, 자외선 조사량이 증가 할수록 MMPs의 활성이 증가하는 것으로 보고되었다^{6,7)}.

현재 피부노화와 주름을 개선하기 위하여 각질층형성세포의 증식과 분화, 활성산소에 의한 노화 억제, MMPs 활성 억제 등으로 세포외기질의 손상을 개선

하고 표피진피연결부(dermal-epidermal junction, DEJ)의 활성을 촉진시키는 방법을 이용하고 있다⁸⁾. 한편 최근에는 식품이나 특정 식품성분으로 장내 건강을 향상시키면서 피부 손상이나 노화의 위험을 감소시켜 피부 건강을 개선할 수 있는 식품소재를 찾아 내는 연구도 진행되고 있다⁸⁾.

홍삼은 두릅나무과(*Araliaceae*)에 속하는 인삼(ginseng)을 고온에 찌서 말린 것으로 인삼의 대표적인 성분은 진세노사이드(ginsenoside)로서 다른 식물에서 발견되는 사포닌과는 독특한 구조 및 활성을 가지는 것으로 알려져 있다⁹⁾. 홍삼의 특이성분인 ginsenoside Rg2, Rg3, Rh1, Rh2 등은 암 예방, 암 세포 성장 억제, 혈압강하, 뇌신경세포보호, 항혈전, 항산화작용 등이 있다고 보고되었다¹⁰⁾. 또한 홍삼의 ginsenoside F1은 자외선으로 촉진되는 세포고사(apoptosis)로부터 각질세포를 보호하는 효과가 있으며, ginsenoside-Rh2는 표피세포의 증식효과가 있고^{11,12)}, 홍삼엑기스를 복강 내 투여 했을 때 자외선 B를 조사한 마우스의 피부손상이 억제되었다^{7,8)}. 어유(魚油, Fish oil)는 고도 불포화 지방산을 다량 함유하고 있으며 특히 ω -3계 eicosapentanoic acid(EPA, C20:5)와 docosahexaenoic acid(DHA, C22:6)가 다량 함유되어 있다¹³⁻¹⁵⁾. 어유는 혈중 콜레스테롤과 중성지방을 저하 시키고 혈액응집력을 약화시켜 동맥경화와 심장병 예방효과 등이 보고되었으며¹⁵⁻¹⁷⁾, EPA와 DHA가 UV-유도 광노화에 예방효과가 있는 것으로 보고되었다¹⁸⁾.

본 연구는 피부 생리 활성에 대한 홍삼과 어유의

교신저자 : 우원홍, 전라북도 익산시 신용동 344-2번지
원광대학교 한의과대학 해부학교실
(Tel : 063-850-6845, E-mail : whwoo@wku.ac.kr)
• 접수 2014/6/26 • 수정 2014/8/7 • 채택 2014/8/14

기존의 연구결과를 토대로 이들을 복합적으로 섭취하였을 때 피부 노화를 개선하는데 어떠한 효과를 나타내는지를 알아보기 위하여, 암컷 무모생쥐(hairless mouse)에 자외선(UV)을 조사하여 인위적인 광노화를 유발시키고, 홍삼군, 어유군, 홍삼과 어유군으로 구별하여 표피세포의 과증식 현상과, MMP-3와 MMP-13의 발현, TIMP-1(tissue inhibitors of matrix metalloproteinase-1)의 발현을 면역조직화학적으로 비교 관찰하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시료 조제

본 과제에 사용된 홍삼은 진안군에서 구입하였으며, 홍삼 뿌리를 100 g에 70% 에탄올 500 ml에 넣은 후, 80℃로 4시간 가열하여 추출액을 얻었다. 1차 거즈로 여과하고 2차 filter paper로 여과한 후 농축한 것을 H₂O 200 ml을 가하여 동결건조 하였다. 위와 같은 과정을 3회 반복하여 얻은 시료를 냉동고에 보관하면서 사용하였으며, 홍삼 31.66 g의 시료를 얻었다. 어유는 멘헤든청어유(Product No. F8020, Sigma 사)를 구입하여 사용하였다.

2. 실험동물

체중 20±3 g(6주령)의 암컷 무모쥐(SKH-1 hairless mice)를 오리엔트사로부터 구입하여, 항온습습(22±2℃, 50±5% RH)하에서 12시간 사이클(09:00~21:00)로 명암이 자동 조절되는 동물사육실에서 1주간 적응시켰다. 사료는 마우스 전용사료를 자유 급이 하였으며, 음수는 2차 D.W를 자유 급식 하였다. 암컷 무모 쥐는 5마리씩 6군으로 나누어 8주 간 진행하였다. 정상대조군은 식염수를 경구 투여하였으며, UV 조사군은 식염수 경구 투여 후 UV를 조사하였다. 시료 처리군은 홍삼, 고용량 어유(high dose), 홍삼과 저용량 어유(low dose), 홍삼과 고용량 어유(high dose)를

각각 경구 투여한 후 UV를 조사한 군으로 나누어 진행하였다. 동물실험은 원광대 실험동물윤리위원회의 규정에 따라 시행하였다.

3. 시료의 경구 투여 및 UV 조사

주당 3회 일정한 시간에 각 시료를 경구 투여 15분 후 UV를 조사하였다. 무모생쥐의 등쪽 피부에 조사한 자외선량을 측정하기 위해 UV meter (Waldmann Co., Germany)를 이용하였으며, 조사량은 20 cm의 거리에서 0.5 mW/cm²로 하였다. UV 조사량은 처음 1주간 60 mJ/cm², 다음 2주째는 90 mJ/cm², 다음 3주에서 4주까지는 120 mJ/cm², 다음 5주에서 6주까지는 160 mJ/cm², 다음 7주에서 8주까지는 190 mJ/cm²로 조사하였다. 시험군은 자외선 비조사군, 자외선 조사군, 시료의 경구투여 후 자외선 조사군으로 나누었으며, 시험 종료 후 각 군의 시험동물의 피부 조직을 얻었다. 시료의 농도는 홍삼의 경우 500 mg/kg 농도(H₂O)로 경구 투여하였고, 어유는 저용량(low dose, 17 mg/kg)과 고용량(high dose, 33 mg/kg)으로 경구 투여하였다.

4. 조직학적 관찰

1) H&E 염색

조직준비를 위해 동물을 희생시킨 후 등쪽 피부를 떼어내어(1×1 cm) filter paper에 편평하게 부착한 후 10% 중성 포르말린에 고정시킨 다음 일반적인 조직 처리 과정을 거쳐 파라핀 포매하여 6 μm 절편을 잘라 Hematoxylin & Eosin(H&E) 염색을 실시하였다.

2) 면역조직화학적조건

파라핀 제거 과정 후 내재성 peroxidase를 억제하기 위해 3% 과산화수소에 3분간 처리하고 수세하였다. 조직 항원 노출이 잘되도록 citrate buffer(pH 6.0, 95℃~100℃)에 20분간 처리하고 항원항체 간 비특이적인 결합을 억제하기 위해 1차 항체를 반응시키

기 전에 blocking reagent로 10분간 처리한 후 1차항체는 MMP-3(1:500 dilution, Santa Cruz Biotechnology), MMP-13(1:500 dilution, Santa Cruz Biotechnology), TIMP-1(1:500 dilution, Santa Cruz Biotechnology)를 사용하였다. LSAB(labeled-streptavidin-biotin)법에 따라 biotinylated-2차항체를 부착하고 chromogen으로 발색 후 hematoxylin으로 대조 염색하였다.

5. 통계처리

실험 결과는 ANOVA-test를 이용하여 p -value를 구하였으며, $p < 0.05$ 인 경우 유의성이 있다고 판정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 홍삼과 어유의 UV-유도 피부조직 손상 억제 효과

본 실험은 홍삼과 어유의 UV에 의한 피부 손상으로부터 예방 효과를 조사하기 위하여 피부 주름 연구에서 기초자료가 풍부한 암컷 무모생쥐(SKH-1 hairless mice)를 실험동물로 사용하여 실험을 실시하였다.

장기간 UV 노출 시 일반적으로 나타나는 피부 조직의 병리학적 특징은 표피의 두께가 2-3배 증가하고, 표피층 유극세포의 증가, 각질세포의 다형성 등이 관찰되며, 엘라스틴을 포함한 물질들이 표피와 진피 연결층 위에 침착된다. 또한 진피층에서는 콜라겐과 엘라스틴의 섬유 구조가 변형되고 탄력섬유의 증가로 인한 elastosis가 관찰된다. 정상 피부 조직인 경우 피하지방층이 널리 분포하지만 UV 노출 시 교원섬유의 분포가 다양하게 관찰되는 특징이 있다^{1,2)}. 본 실험에서 피부 조직의 병리학적 관찰 결과, UV 조사군은 대조군에 비해 약 2.5배 정도 표피의 두께가 증가하였다. 그러나 시료처리군인 홍삼군, 어유군, 홍삼과 저용량 어유(low dose)군 및 홍삼과 고용량 어유(high dose)군의 경우 모두 표피의 두께가 UV 대조군에 비

해 줄어드는 양상을 관찰할 수 있었다(Fig. 1A, 1B).

광노화시 피부의 진피층 보호를 위해 각질층의 형성이 증가하여 피부의 두께는 두꺼워지기 때문에 자외선 등에 의한 피부의 두께가 두꺼워졌다는 것은 그만큼 피부 손상이 크다는 것을 의미 한다. 따라서 본 연구 결과 홍삼군, 어유군, 홍삼과 저용량 어유(low dose)군 및 홍삼과 고용량 어유(high dose) 복합처리군 모두 UV 조사에 의한 표피세포의 과증식을 억제함으로써 UV에 의한 피부 광노화를 억제한 것으로 나타났다.

2. 피부조직에서 홍삼과 어유의 UV-유도 MMP-3 및 MMP-13 발현 억제 효과

피부결합조직에는 세포외기질 단백질 중 type I collagen이 가장 많이 존재하며, 그 밖에 elastin, fibronectin, integrin, fibrillin, 프로테오글리칸 등이 존재한다. MMP는 세포외기질 단백질 특히 collagen을 분해하는 대표적인 효소이며, 이외는 반대로 TIMP는 collagen 분해효소의 작용을 억제하는 억제자로 알려져 있다^{19,20)}. 따라서 피부 주름 형성은 MMP와 TIMP의 영향을 받게 되며, UV는 진피의 섬유아세포의 MMPs 분비를 촉진하고, 이로 인하여 진피의 collagen의 함량이 저하되는 것으로 알려져 있다^{3,4)}.

MMPs는 구조적으로 연관된 endopeptidase의 family로서 collagenases, gelatinases, stromelysins, membrane-type MMPs, 그 외의 MMPs로 몇 개의 그룹으로 구성되어 있다. 그 중 collagenase-1으로 알려져 있는 MMP-1은 type I과 type II collagen을 분해하며, MMP-3(stromelysin-1)은 기저막의 type II collagen을 분해하고 proMMP-1을 활성화시키는 역할을 하고 있다. 그러나 MMP-1의 경우 Mouse와 Rat에는 존재하지 않고 MMP-13이 collagenase-1의 역할을 대신하고 있다^{19,20)}. 따라서 본 실험에서 광노화시 주름 생성에 중요한 역할을 하고 있는 MMP-3과 MMP-13의 발현에 미치는 홍삼과 어유의 식이 효과를 조사하였다.

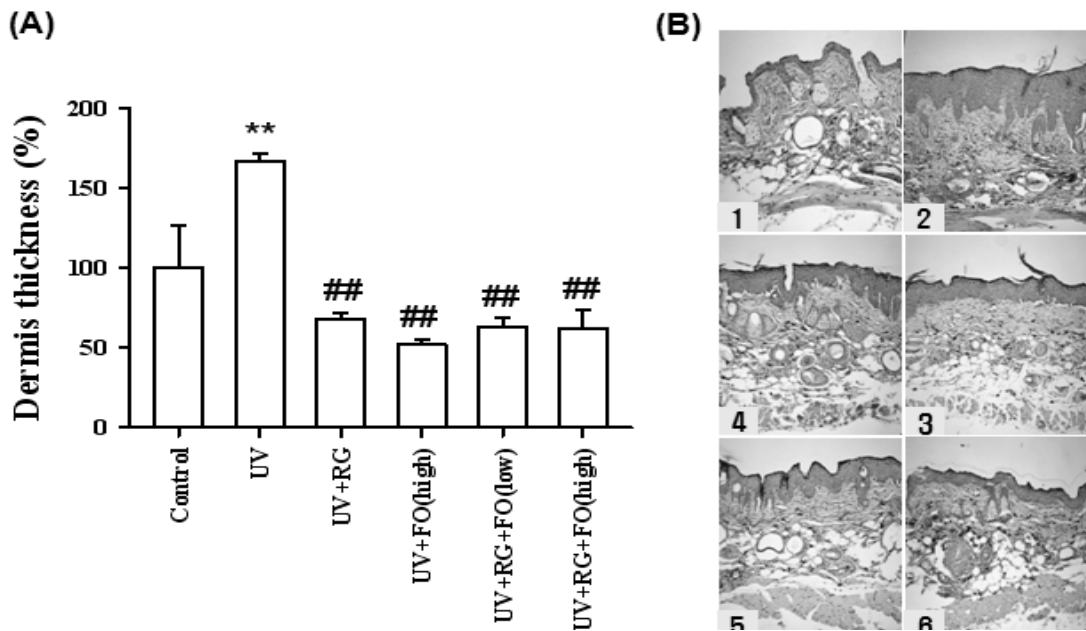


Fig. 1. Effect of complex diet of red ginseng and fish oil on UVB-induced epidermal hypertrophy in vivo. Histological sections of mouse dorsal skins were stained with haematoxylin and eosin staining. The distance from the basal layer to the stratum granulosum/stratum corneum junction was measured for epidermal thickness of dorsal skins (A). Results are expressed as fold change. Values are mean±SEM. **p<0.01 vs control, ## p<0.01 vs UV-irradiated group. (B) Histological section of hairless mouse dorsal skin exposed to UV irradiation (×200). 1: control group, 2: UV control group, 3: UV/RG group, 4: UV/FO(high) group, 5: UV/RG/FO(low) group, 6: UV/RG/FO(high) group.

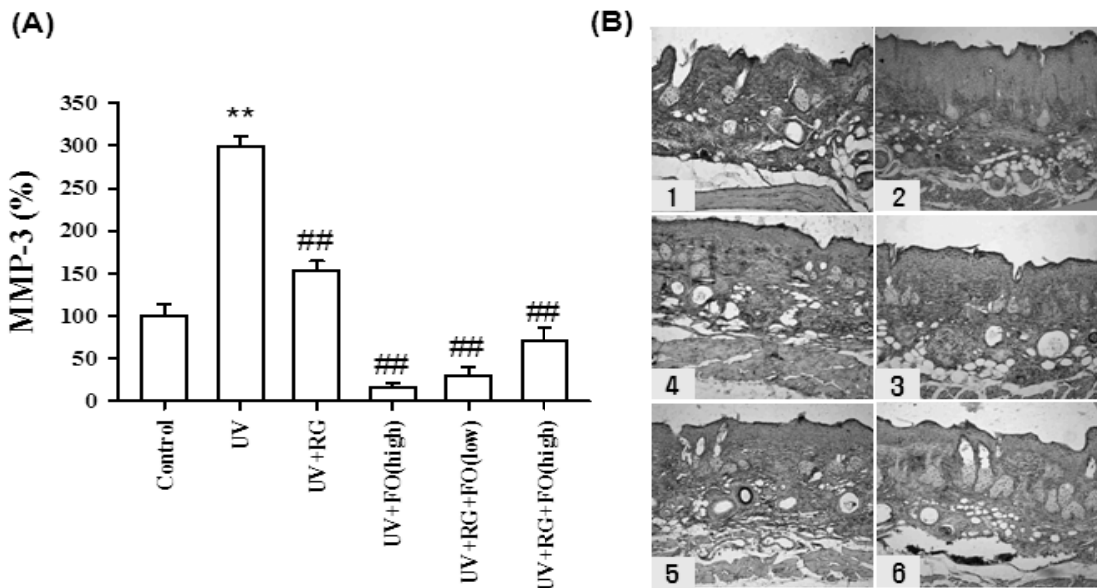


Fig. 2. Effect of complex diet of red ginseng and fish oil on expression level of MMP-3 in UV-irradiated mouse skin. (A): Expression level of MMP-3 in skin tissue. The average results are presented with standard errors of the mean. **p<0.01 vs control, ## p<0.01 vs UV-irradiated group. (B) Immunohistochemical staining of MMP-3 in hairless mice skin from untreated (1), UV-irradiated group (2), UV/RG group (3), UV/FO(high) group (4), UV/RG/FO(low) group (5), UV/RG/FO(high) group (6).

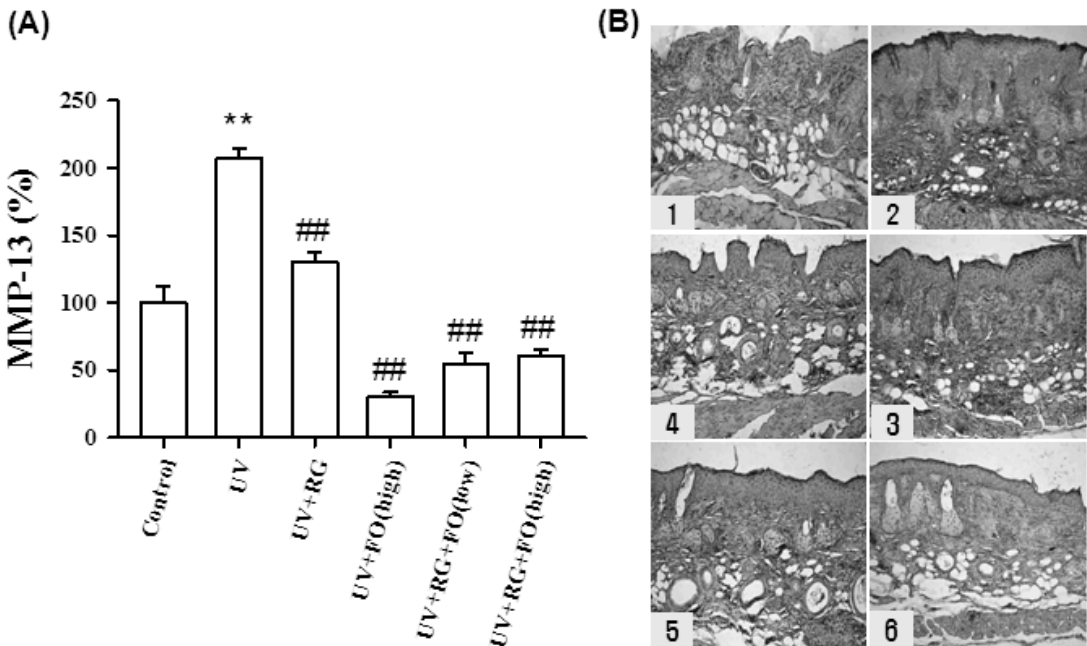


Fig. 3. Effect of complex diet of red ginseng and fish oil on expression level of MMP-13 in UV-irradiated mouse skin. (A): Expression level of MMP-13 in skin tissue. The average results are presented with standard errors of the mean, **p<0,01 vs control, ## p<0,01 vs UV-irradiated group. (B) Immunohistochemical staining of MMP-13 in hairless mice skin from untreated (1), UV-irradiated group (2), UV/RG group (3), UV/FO(high) group (4), UV/RG/FO(low) group (5), UV/RG/FO(high) group (6).

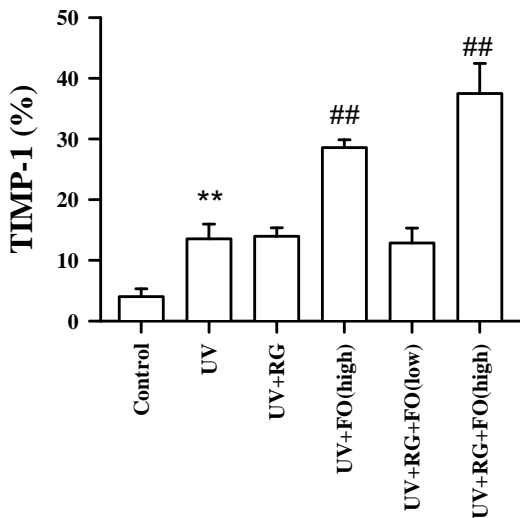


Fig. 4. Effect of complex diet of red ginseng and fish oil on expression level of TIMP-1 in UV-irradiated mouse skin.

Expression level of TIMP-1 in skin tissue. The average results are presented with standard errors of the mean, **p<0,01 vs control, ## p<0,01 vs UV-irradiated group.

실험결과 UV 조사군에서 MMP-3의 발현이 대조군에 비하여 현저히 증가하였으며, 홍삼군, 어유군, 홍삼과 어유 복합처리군 모두 MMP-3의 발현이 감소되었다(Fig. 2A, 2B). 특히 어유군과 홍삼과 저용량 어유(low dose)군 및 홍삼과 고용량 어유(high dose)군에서는 MMP-3의 발현이 base line 이하로 감소되었다. 또한 홍삼과 저용량 어유(low dose)군 및 홍삼과 고용량 어유(high dose)군은 홍삼 단일처리군 보다 효과적으로 MMP-3의 발현을 억제하였다.

MMP-13를 조사한 결과에서도 UV에 의해 MMP-13의 발현이 현저히 증가하였으며, 홍삼군, 어유군, 홍삼과 어유 복합처리군에서 MMP-13의 발현이 감소되었다(Fig. 3A, 3B). 특히 어유군과 홍삼과 저용량 어유(low dose)군 및 홍삼과 고용량 어유(high dose) 처리군에서 MMP-13의 발현이 base line 이하로 감소되었다. MMP-3와 유사하게 홍삼과 저용

량 어유(low dose)군 및 홍삼과 고용량 어유(high dose)군은 홍삼 단일처리군 보다 효과적으로 MMP-13의 발현을 억제하였다. 소 등(2008)의 실험결과에서도 수컷 무모생쥐에서 홍삼, 사상자, 산수유 혼합물(KTNG0345)이 UV-유도 MMP-3의 발현을 억제하였다.

이상의 결과는 홍삼, 어유, 홍삼과 어유 복합처리 시 각각 MMP-3와 MMP-13의 발현을 감소시킴으로서 세포의 기질 단백질의 분해가 감소되고 결과적으로 광노화에 의한 주름 생성 억제에 효과가 있음을 시사한다. 또한 어유군과 홍삼과 저용량 어유(low dose)군 및 홍삼과 고용량 어유(high dose)군에서 MMP-3과 MMP-13의 발현이 UV를 조사하지 않은 대조군의 base line 이하로 감소되었는데 이는 광노화 뿐만 아니라 내인성 노화에 의한 주름 생성 억제에도 효과가 있을 것으로 추정된다.

3. 피부조직에서 홍삼과 어유의 UV-유도 TIMP-1 발현 촉진 효과

조직의 특성을 나타내고 있는 세포외기질(ECM)은 끊임없이 분해와 생성과정을 통해 항상성이 유지되고 있다. 생리적인 조직의 재구성과 항상성이 유지되기 위해서는 MMPs뿐만 아니라 TIMP의 활성이 균형을 이루어 적절히 조절되는데, 피부노화를 비롯한 암, 관절염, 심혈관계 질환 등 많은 질병에서 MMPs와 TIMP의 발현과 활성에 변화가 있음이 보고되었다^{21,22)}. 따라서 본 실험에서 MMPs의 저해제인 TIMP-1의 발현에 미치는 홍삼과 어유의 식이 효과를 조사하였다.

실험결과 UV 조사 시 TIMP-1의 발현이 정상대조군에 비하여 증가하였다(Fig. 4). 이는 UV에 의한 피부조직의 손상을 복구하기 위하여 조직 내 TIMP-1의 발현이 증가했을 것으로 사료된다. 시료군인 홍삼군과, 홍삼과 저용량 어유(low dose)군은 UV 조사군과 같은 정도로 TIMP-1가 발현 되었으나, 어유군에서 TIMP-1의 발현이 현저하게 증가하였다. 특히 홍삼과 고

용량 어유(high dose)군의 경우 가장 높게 발현되었다.

이상의 결과 어유는 피부조직에서 TIMP-1의 발현을 촉진하며 홍삼과 고용량 어유(high dose) 복합처리 시 상승적으로 TIMP-1의 발현을 촉진되었다. 따라서 어유 및 홍삼과 고용량 어유(high dose)는 TIMP 발현을 촉진시킴으로서 MMPs의 활성화 이에 의한 세포외 기질 단백질의 분해를 감소시키고 결과적으로 광노화에 의한 주름 생성을 억제 할 것으로 사료된다.

4. 발현증상 관찰 및 체중변화

정상대조군을 포함한 모든 시험군에서 시험기간 동안 사망한 동물은 관찰되지 않았으며, 전 동물에서 시험물질 투여에 의한 특이하게 발현되는 증상은 관찰되지 않았다. 전 시험 기간 중 체중에 대한 통계적인 ($p < 0.05$) 유의한 군 간의 변화는 관찰되지 않았다 (data unknown).

IV. 결 론

본 실험은 주름 예방 및 개선 효과가 있는 식품을 개발하기 위한 기초자료로 활용하기 위하여 무모생쥐에 홍삼과 어유를 경구 투여하고 UV-유도 광노화에 대한 개선 효과를 조사하였다. 무모생쥐에 자외선을 조사하여 인위적으로 광노화를 유발시키면서, 홍삼과 어유를 경구 투여하고 자외선으로 인한 피부조직 변화, MMP-3, MMP-13 및 TIMP-1 발현 양상을 조사하였다.

1. 홍삼군, 어유군, 홍삼과 저용량 어유(low dose)군 및 홍삼과 고용량 어유(high dose)군에서 UV 조사에 의한 표피세포의 과증식을 억제하였다.
2. 홍삼군, 어유군, 홍삼과 저용량 어유(low dose)군 및 홍삼과 고용량 어유(high dose)군에서 MMP-3와 MMP-13의 발현이 감소되었다. 또한 어유군, 홍삼과 저용량 어유(low dose)군 및 홍삼과 고용

량 어유(high dose)군에서는 MMP-3과 MMP-13의 발현이 UV를 조사하지 않은 대조군의 base line 이하로 감소되었다.

3. 홍삼군, 홍홍삼과 저용량 어유(low dose)군은 UV군과 동일하게 TIMP-1가 발현 되었으나, 어유군에서 TIMP-1의 발현이 현저하게 증가하였다. 특히 홍삼과 고용량 어유(high dose)군의 경우 가장 높게 발현되었다.

이상의 결과를 종합하면 홍삼과 어유는 단일섭취보다 복합식이의 경우 효과적이었으며, 표피세포의 과증식을 억제하고 MMP-3, MMP-13의 활성 억제와 TIMP-1의 활성 촉진을 통하여 collagen의 분해를 감소시킬 것이며, 결과적으로 광노화뿐만 아니라 내인성노화에 의한 주름 생성의 억제에도 효과가 있을 것으로 사료된다.

감사의 말씀

이 논문은 2012년도 원광대학교 교내 연구비 지원에 의하여 수행되었음.

References

1. Jean LB. Aging skin. Am J Med. 1995;8:S99-103.
2. Laure RG, Fisher J. UV-light-induced signal cascades and skin aging. Ageing Res Rev. 2002;1:705-20.
3. Jeroma SP, Gabrielle L, Raul F. Identification of collagen fibrils in scleroderma skin. J Invest Dermatol. 1998;90:48-54.
4. Grant NH, Alburn HE. Studies on the collagenases of Clostridium histolyticum. Arch Biochem Biophys. 1959;82:245-55.

5. Demina NS, Lysenko SV. Collagenolytic enzymes synthesized by microorganism. Mikrobiologiya. 1996;65:293-304.
6. Park SH, Hong YM, Choi YJ, Choi JH, Kim BK. Antiwrinkle Effects of Mugwort (*Artemisia vulgaris*) Extracts on UVB-Irradiated Hairless Mouse Skin. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2008;37(9):1136-41.
7. So SH, Lee SK, Hwang EI, Koo BS, Han GH, Lee MJ, et al. Mechanism of Korea red ginseng and herb extract(KTNG0345) for anti-wrinkle activity. J Ginseng Res. 2008;32(1):39-47.
8. Lee JH, Lee BS, Yang MS, Byun BS, Kim WG, Kim BH, et al. Prevention of Photoaging and Wrinkle Formation in Hairless Mice Dorsal Skin by APB-03. Korean J Food Sci Technol. 2005;37(6):989-96.
9. Choi KT. Botanical characteristics, pharmacological effects and medical components of Korean Panax ginseng CA Meyer. Acta Pharmacol Sin. 2008;29:1109.
10. Lee SH, Kang JI, Lee SY. Saponin composition and physico-chemical properties of Korean red ginseng extract as affected by extracting conditions. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2008;37:256-60.
11. Choi, S. Epidermis proliferative effect of the Panax ginseng ginsenoside Rb2. Arch. Pharm Res. 2002;25:71-6.
12. Lee E,H, Cho SY, Kim SJ, Shin ES, Chang HK, Lee TR. Ginsenoside F1 protects human HaCaT keratinocytes from ultraviolet-B-induced apoptosis by maintaining constant levels of Bcl-2. J Invest Dermatol. 2003; 121:607-13.

13. Dyerberg J, Bang HO, Stohersen E. Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis. *Lancet*. 1978; 2:117.
14. Bang HO, Dyerberg J, Hjørne N. The composition of food consumed by Greenland Eskimos. *Acta Med. Scand*. 1976;69:200.
15. Bang HO, Dyerberg J, Sinclair HM. The composition of the Eskimo food in North western Greenland. *Am. J Clin Nutr*. 1980;33:2657.
16. Herold PM, Kinsella JE. Fish oil consumption and decreased risk of cardiovascular disease. A comparison of finding from animal and human feeding trials. *Am J Clin Nutr*. 1986;107:890.
17. Mori TA, Codde JP, Vandongen R, Beilin LJ. New findings in the fatty acid composition of individual platelet phospholipids in man after dietary fish oil supplementation. *Lipids*. 1987;22:744.
18. DiNicolantonio JJ, Meier P, O'Keefe JH. Omega-3 polyunsaturated fatty acids for the prevention of cardiovascular disease: do formulation, dosage & comparator matter? *Mo Med*. 2013;110(6):495-8.
19. Fisher GJ, Datta S, Talwar HS, Wang ZQ, Varani J, Kang S, et al. Molecular basis of sun-induced premature ageing and retinoid antagonism. *Nature* 1996;379:335-9.
20. Vincenti MP, Brinckerhoff CE. Transcriptional regulation of collagenase (MMP-1, MMP-13) genes in arthritis: integration of complex signaling pathways for the recruitment of gene-specific transcription factors. *Arthritis Res*. 2002;4:157-64.
21. Yokose U, Hachiya A, Sriwiriyanont P, Fujimura T, Visscher MO, Kitzmiller WJ, et al. The endogenous protease inhibitor TIMP-1 mediates protection and recovery from cutaneous photodamage. *Invest. Dermatol*. 2012;132(12):2800-9.
22. Vanhoutte D1, Heymans S. TIMPs and cardiac remodeling: 'Embracing the MMP-independent-side of the family'. *J Mol Cell Cardiol*. 2010;48(3):445-53.