Journal of the Korea Convergence Society
Vol. 12. No. 1, pp. 251-257, 2021

ISSN 2233-4890 / eISSN 2713-6353
https://doi.org/10.15207/JKCS.2021.12.1.251

자외선 자극에 의한 피부노화 억제 천연물 소재 개발

당수민
영남이공대학교 뷰티스쿨 교수

Development of Anti-aging from Natural Materials by Inhibition of UV Stimulating

Su-Min Dang
Professor, Department of Beauty School, Yeungnam University College

요 약 본 연구에서는 천연재료인 편백나무 수피에서 추출한 천연추출물이 자외선에 의한 피부 노화를 보호할 수 있는 소재로 조사하였는데, 피부의 천연보습인자를 구성하는 필라그린(filaggrin)의 합성과 진피의 보습에 중요한 역할을 하는 섬유단백질인 Pro-collagen의 합성과 콜라겐(collagen)을 분해하는 효소의 저해효과 및 탄력섬유인 엘라스틴(elastin)의 분해효소 저해 실험을 진행하였다. 결과적으로 편백에탄올추출물은 collagenase와 elastase를 농도의존적으로 저해하였으며, 자외선에 손상을 받은 각질형성세포에 대한 filaggrin의 합성과 MMP-1의 발현을 억제하였다. 따라서 이런한 결과는 에탄올추출물(COE)이 주름생성을 지연시키는 역할과 피부노화 융합 억제 하는 기능성 화장품 소재로서의 효과를 가질것으로 사료된다. 본 연구를 바탕으로 filaggrin의 합성이 항주름 효과인 MMP의 발현억제에 미치는 기전을 더 연구하고자 한다.

주제어 : 융합, 항노화, 편백수피, 엘라스틴, 콜라겐, 필라그린

Abstract In this study, natural extracts extracted from cypress sapiens, a natural material, were investigated as materials that could protect skin aging caused by ultraviolet rays, and experiments were conducted on the synthesis of filaggrins that make up the natural moisturizing factor of the skin, the synthesis of pro-colagen, a fibrous protein, which plays an important role in moisturizing the dermis, and elastin, which is an enzyme that decomposes collagen. As a result, cypress ethanol extract (COE) was a dependent inhibitor to collagenase and elastase, inhibiting the synthesis of filaggrin and the expression of MMP-1 for exfoliated cells damaged by ultraviolet rays. Therefore, it is estimated that ethanol extract will have the effect of delaying wrinkles and as a functional cosmetic material that inhibits skin aging convergence. Based on this study, we would like to further study the mechanism of the synthesis of filaggrin on the suppression of expression of MMP, which is the anti-wrinkle effect.

Key Words : Convergence, Anti-wrinkle, Chamaecyparis obtuse, Elastin, Collagen, Filaggrin

*This Study was supported by the Yeungnam University College Research Grants in 2017.
*Corresponding Author : Su min Dang(dang6751@ync.ac.kr)
Received November 11, 2020 Revised December 24, 2020
Accepted January 20, 2021 Published January 28, 2021

1. 서론

현대사회 발전의 역기능으로 지구 환경의 변화가 가속화되면서 미세먼지와 자외선 같은 피부에 악영향을 미치는 요인들의 증가로 인하여 피부에 대한 손상의 발생 빈도가 증가하고 있다. 의학과 의료기술의 발전으로 인간의 평균 수명은 점차 증가하고 있고, 신체의 건강과 외모에 대한 관심과 아름다움를 유지하기 위해 다양한 항산화 및 항노화 치료용으로 활용 가능한 소재 및 화장품에 대한 연구와 개발이 현재 진행되고 있는 상황이다.

최근 워라밸을 중요하게 생각하는 사회 분위기의 조성으로 인하여 남성뿐 아니라 여성들도 야외에서 취미 및 활동이 활발해지면서 피부에 유해한 자외선에 노출되는 시간이 증가하면서 그로 인하여 피부 홍반, 색소침착, 피부암 유발과 같은 피부 건강에 위험과 노화가 발생 되고 있다.

인간의 피부노화는 외인성 노화(exogenous aging)와 내인성 노화(intrinsic aging)로 분류할 수 있다. 내인성 노화는 시간이 지남에 따라 생체 구성 단백질의 생합성이 감소와 호르몬 분비가 감소하면서 생기는 노화이며, 외인성 노화는 오염된 공기나 자외선에 의한 광노화로 피부가 얇아지고 주름 증가, 탄력 저하가 일어나며 색소침착 등이 증가하게 되는 노화를 의미한다[1.2]. 노화현상은 피부조직에서 일어나는데 각종 스트레스, 자외선의 노출, 환경오염 물질, 체내 대사 작용 등에 의해 체내 프리라디칼(free radical)의 생성이 촉진되는데 이 과정에서 생성된 프리라디칼은 체내 방어시스템인 항산화 물질과 항산화계 효소에 의하여 제거되지만, 보호망 파괴가 점차 진행되면서 남아있는 프리라디칼이 노화를 촉진할 뿐만 아니라 생체조직을 손상시킨다. 그러므로 활성산소인 이들은 각종 성인병과 염증을 유발하게 되며, 피부노화에 원인이 된다[3].

인간의 피부는 산소와 자외선에 노출과 산소로 인한 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이 유도되어 산화적 스트레스를 받게 되고, 자외선으로 인한 피부 손상의 중요한 인자인 hydroxy 및 superoxide radical이 피부에 존재하는 지질과 산화반응의 개시, 항산화 물질의 파괴, DNA 산화, 단백질의 산화, 결합조직 성분인 히아루로닉 엑시드와 콜라겐 및 엘라스틴 등의 비정상적인 교차결합과 결합사슬 절단에 의한 피부노화를 가속화되는 주름생성과 멜라닌 생성이 촉진된다[4.5]. 자외선 노출의 결과로 발생 되는 지질의 과산화, DNA 손상, 단백질 산화 등은 노화 및 성인병 질환을 유발하고 산화적 스트레스로 인해 세포 성분들은 손상이 진행된다. 또한 진피의 기질성분들인 히아루론산, 콜라겐, 엘라스틴을 분해하는 효소인 matrix metalloproteinases(MMPs)의 발현이 증가되어 멜라닌 생성이 촉진되는데, 결과적으로 주근깨 및 기미생성, 피부의 탄력감소, 주름생성 등 피부노화 가속화가 된다.[6-8].

피부는 이러한 활성산소종의 산화적 손상을 차단하고 예방하기 위한 항산화 방어망을 구축하고 있다. 그 예로 효소적 항산화제인 catalase, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase, glutathione S-transferase 등과 비효소적 항산화제와 비타민 C, 비타민 E, β-카로틴, 플라보노이드 등이 존재한다. 효소적, 비효소적 항산화제는 활성산소종을 직접 소거하거나, 활성산소종에 의한 세포 및 피부 구성 성분들을 손상으로부터 보호하기 위해 연쇄 반응을 차단한다[9]. 이러한 항산화에 대한 관심이 증대되고 다양한 관련 화합물이 개발되면서 이러한 욕구들이 충족되고 있다. 기존의 항산화제 성분은 셀레늄, 플라보노이드(flavonoid), 비타민C, 카로티노이드(carotinoid), 비타민E, 코엔자임Q10 등이 있다. 최근에는 천연물에서 유래한 성분들을 개발하는 연구에 관심이 향상되면서 합성 원료를 적절히 대체할 천연물에서 항산화 효과를 나타내는 추출 가능한 소재를 탐색하는 데 노력을 기울이고 있다.

편백나무(Chamaecyparis obtuse)는 우리나라 남쪽 지방에서 잘 생육되며 다양한 종류의 테르펜 성분을 함유하고 있는 편백나무의 추출물 성분들이 다방면으로 사용되어지고 있다[10].

편백나무 추출물인 피톤치드(phytoncide)는 전문적으로 사용되는 용어이며, 휘발성분을 가진 편백정유로 '식물'을 뜻하는 'phyto'와 '죽이다' 라는 의미를 갖는 'cide'의 합성어이다. 따라서 편백정유 내 함유되어 있는 물질로서 항균작용과 미생물 생장에 영향을 주는 물질이며 미생물의 번식을 막는 역할을 한다.

최근 우리나라에서 편백나무의 피톤치드의 효능이 알려지면서 항산화작용과 항암효과가 있으며 외부로부터 나무를 보호하는 효과가 있다고 보고된 바가 있다[11]. 또한 자연 친화적인 편백나무를 이용한 생활용품들과 건강을 위한 천연물질의 개발이 적극적으로 이루어지고 있으며, 비누 및 탈취제 등 편백정유를 이용한 제품들이 개발되어 활발히 판매되고 있고, 천연물질이 화학물질에 비해 잔류독성이나 부작용이 적다는 장점이 부각되면서 편백의 열매, 줄기, 잎 등에서 기능성 천연물질을 찾고자 많은 노력과 인체 생리활성 물질에 대한 다양한 연구가 지

속되고 있다[12].

따라서 본 연구에서는 천연재료인 편백나무 수피에서 추출한 천연추출물의 항산화 효과를 측정하고 자외선에 의한 피부 노화를 보호할 수 있는 융합 소재를 찾고자 한다.

2. 재료 및 방법

본 실험에 사용한 편백나무는 전남 광양시 광양읍 일원에서 채집하였고, 시료 중량의 10배의 99% 에탄올을 첨가하여 실온에서 24시간 침지하여 침전물과 상등액을 분리하여 동일한 방법으로 3회 반복하여 추출하였다. COE를 여과하고 감압농축 한 후 동결건조하여 분말을 얻어 내었으며, 냉장 보관하며 실험에 사용하였다.

2.1 엘라스타아제(Elastase) 저해활성 측정

엘라스타아제 저해활성 측정은 Cannell 등[13]의 방법을 변형하여 실험하였다. 일정 농도가 되도록 각 시험용액을 조제하였고, 시험관에 0.5mL씩 주입하였다. 50mM tris-HCl buffer (pH 8.6)에 녹인 porcine pancreas 엘라스타아제 (2.5 U/mL)용액 0.5mL을 첨가하였다. 기질로 50 mM tris-HCl buffer(pH8.6)에 녹인 N-succinyl-(L-Ala)3-p-nitroanilide (0.5mg/mL)을 첨가하였다. p-nitroanilide의 생성량을 20분간 반응시켜 445nm에서 측정하였다. 엘라스타아제 저해활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

2.2 콜라겐나아제(Collagenase) 저해활성 측정

콜라겐나아제 저해활성 측정은 Widowati 등(14)의 방법을 변형하여 다음과 같이 측정하였다. 반응구는 0.1 M tris-HCl buffer (pH 7.5)에 4 mM CaCl2를 첨가하 4-phenylazobenzyloxycarbonyl-Pro-Leu-Gly-Pro-D-Arg(0.3 mg/mL, Sigma-Aldrich Co.)를 녹인 시료용액 0.1mL의 혼합액 및 기질액 0.25mL 및 콜라겐나아제 (0.2 mg/mL Sigma-Aldrich Co.) 0.15mL를 첨가한다. 실온에서 20분간 반응시킨 후 6% citric acid 0.5mL을 첨가하여 반응을 정지시킨다. ethyl acetate 1.5mL을 첨가하고 320nm에서 흡광도를 측정하였다. 콜라겐나아제 저해활성은 시료 용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

2.3 세포 주 배양

세포 독성 측정으로 German Cancer Research Center (DKFZ, Germany)로부터 Human 유래 keratinocyte cell line인 HaCaT cells을 공급받았고 섬유아세포 CCD-986sk 구입은 American Culture Collection (Manassas, VA, USA)에서 세포 독성 측정 및 배양을 위한 배지조성을 위해 구입하였다. 본 실험에 이용한 각 세포의 배양은 1% penicillin/streptomycin (100 U/mL)와 10% FBS를 첨가한 DMEM 배지를 사용하였는데, 37℃5% CO2 , 37℃ 인큐베이터(incubator)에 계대 배양을 위해 적응시켰다.

2.4 MTT assay에 의한 세포 독성 측정

MTT assay에 의한 세포에 미치는 독성 측정을 위해 96 well plate에 5×10^3 cells/well이 되게 0.18mL CCD-986sk 세포를 분주하였다. 농도별로 시료를 조제하였고 0.02mL 첨가하였다. 24시간 5% CO_2, 37℃, 5인큐베이터에서 배양하였다. 여기에 5mg/mL농도로 제조한 3-[4,5-dimethylthiazol]-2-yl]-2,5-diphenyl-tetrazoliumbromide (MTT, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 용액 0.02mL를 첨가하였다. 4시간 배양한 후 배양액을 제거하였고, 각 well당 DMSO 0.15mL를 첨가하였다. 실온에서 15분간 반응시켰으며 흑광도 측정을 위해ELISA reader로 540nm에서 측정, 시료용액의 첨가군와 무첨가군의 흡광도 감소율로 세포 독성 측정하였다.

2.5 MMP-1의 발현 측정

MMP-1의 발현 측정을 위해 Enzyme-Linked Immunosorbent assay (ELISA)를 이용하였다. 배지의 분취량을 immune well plates에 옮겨 담고 37℃에서 2시간 동안 배양하였다. 각 well은 casein으로 blocking하고 나서 MMP-1 antibody를 37℃에서 1시간 동안 배양하였다. washing buffer를 이용하여 세척하고 나서 peroxidase가 결합된 2차 항체를 처리한 후 37℃에서 1시간 동안 배양하였다. washing buffer를 이용하여 철저히 세척하고 나서 발색될 때까지 TMB(tetramethylbenzidine)을 첨가하여 재배양한 후 흡광도 측정을 위해 ELISA reader (Bio-Tek instruments, USA)를 이용하였고 450nm에서 측정하였다.

2.5 Type-Ⅰ Pro-collagen synthesis assay

Human dermal fibroblasts를 24-well plates에 5×10^4 cells/well이 되게 분주하고 24시간 후에 배지를 제거하였다. PBS(phosphate-buffered saline)를 이용하여 2회 반복 세척한 후 세포에 무혈청배지를 추가하였다. 24시간 후에 시료를 농도별로 추가한 후 48시간 동안 배양하였다. 배양액에 UVB 312nm (20mL/cm^2)의 자극을 가하였고, 콜라겐의 함량 측정은 C- peptide (PIP), Pro-collagen type I, EIA kit(Takara Bio Inc., Otsu Shiga, Japan)를 사용하였다.

Keratinocyte는 24-well plates에 1×10^4cells/well이 되게 분주하고, 24시간 후에 배지를 제거하였다. PBS (phosphate-buffered saline)를 이용하였다. 2회 반복 세척한 후 세포에 무혈청배지를 추가하였다. 24시간 후에 시료를 농도별로 추가한 후 48시간 동안 배양하였다. 배양액에 UVB 312nm (20 mL/cm^2)를 자극한 후 Filaggrin ELISA Kit (Human FLG / Filaggrin (Sandwich ELISA) ELISA Kit, LS-F7249, LSBio Inc., WA, USA)를 사용하여 함량을 측정하였다.

본 실험결과에 대한 통계처리는 SPSS 25.0 (IBM SPSS Inc., NY, USA)를 이용하였다. 각 처리군 간의 유의성에 대한 검증은 분산분석(analysis of variance, ANOVA)을 이용하였고, 평균과 표준편차로 나타내었다. 실험결과에 유의성을 확인한 후, Duncan's multiple range tests ($P<0.05$)로 다중비교와 t-test를 이용하여 통계적 유의수준 $p<0.05$에서 검증하였다.

3. 실험결과 및 고찰

3.1 엘라스타아제(Elastase) 저해 효과

엘라스타아제는 세포와 세포사이, 조직과 조직사이에 존재하는 extracellular matrix (ECM) 단백질 중의 하나로 장기와 혈관 등의 탄력성을 담당하는데, 피부의 엘라스틴은 진피층에 존재하며 다른 ECM 단백질들과 가교결합을 형성하고 있기 때문에 엘라스틴의 분해는 주름의 생성과 아주 밀접한 관계가 있다. 엘라스틴 분해효소 중 하나인 엘라스타아제는 엘라스틴을 포함하여 콜라겐과 다른 ECM 단백질을 비특이적으로 분해하는 효소이며 주름을 생성하는 직접적인 원인 중 하나이다[15]. 편백수피 99% COE의 엘라스타아제 저해효과에 대한 실험결과는 Fig. 1과 같다.

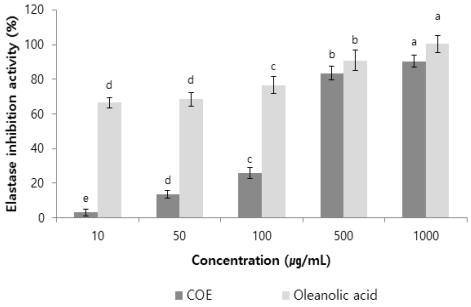

Fig. 1. Elastase inhibition activity of Chamaecyparis obtuse extracts. Values without a common letter in each week are significantly different ($p < 0.05$) using one-way ANOVA and Duncan's multiple range test

COE 500과 1,000μg/mL의 농도에서 약 83.5%, 90.3%의 저해활성을 보였으며, 대조군인 올레놀산(olenolic acid)가 같은 농도에서 약 90.8%, 100%인 것과 비교하여 매우 유의할 만한 결과였다. 이는 Jia 등[15]의 연구에서 달래 물 추출물의 IC50이 298.37mg/mL이었고, Kang 등

[16]은 꾸지뽕열매 추출물은 500mg/%에서 40.44%의 저해효과를 보였다고 보고한 결과와 비교하였을 때 COE의 엘라스타아제 저해활성이 매우 우수함을 알 수 있다. 편백에 대한 엘라스타아제 저해활성에 대한 연구는 아직 보고된 바가 없다.

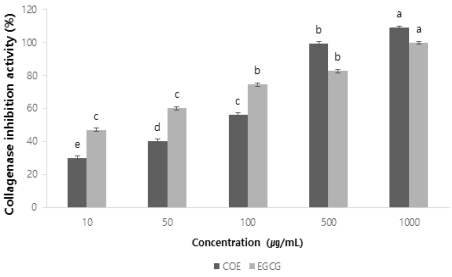

Fig. 2. Collagenase inhibition activity of Chamaecyparis obtuse extracts. Values without a common letter in each week are significantly different ($p < 0.05$) using one-way ANOVA and Duncan's multiple range test.

3.2 콜라겐나아제(collagenase) 저해 효과

콜라겐은 트립신과 같은 단백질 분해효소의 작용을 받지 않고 피부에서 탄력과 결합에 중요한 역할을 하며 콜라겐나아제에 의해 분해된다[17]. 따라서 콜라겐은 피부

의 주름생성을 촉진시키는 요인이 되고 세포외기질 단백질을 분해하는 효소이다. 이러한 콜라겐의 억제능 실험결과는 Fig. 2와 같다. Fig. 2에서 편백수피는 500과 1,000μg/mL의 농도에서 약 99.4%와 108.9%의 매우 우수한 저해효과를 보였으며 이는 대조군으로 사용된 EGCG(82.7%와 99.8%)보다 뛰어난 결과였다. Min 등[18]의 보고한 단삼의 COE에 대한 분획물 가운데 chloroform fraction 1%의 농도에서 88.2±2.1%의 저해활성을 나타낸 결과와 비교했을 때, 본 연구의 결과가 낮은 농도에서 높은 콜라겐나아제 저해 효능을 나타내고 있음을 확인할 수 있었다. 편백에 대한 콜라겐 저해활성에 대한 연구는 아직 보고된 바가 없다.

3.3 Filaggrin synthesis assay

Filaggrin synthesis assay에서 천연보습인자는 필라그린(filaggrin)이 분해되어 생성된 아미노산과 그 대사산물로 구성되며 이외에 각종 무기염류도 포함된다[19]. 필라그린은 프로필라그린(pro-filaggrin)으로부터 합성이 되는데 프로필라그린은 표피 과립층에서 생성되어 케라토히알린 과립에 비활성 및 불용성인 상태로 저장되며 표피의 칼슘수치 증가에 의해 촉진되는 탈인산화 및 단백질 분해과정 등의 여러 단계를 거쳐서 필라그린으로 전환된다. 필라그린은 각질층으로 방출되어 세포골격을 형성하는 케라틴(keratin) filaments와 결합하고 trans-glutaminase (TGMs)에 의한 교차결합과 peptidylarginine deiminase-3 (PAD3)에 의한 변형과정을 통하여 견고해진다. 필라그린은 이후 caspase-14 등의 여러 분해효소들에 의해 유리아미노산으로 최종 분해되어 천연보습인자로서의 기능을 한다[20]. 아미노산이 피부의 보습상태에 중요한 역할을 하고[21] 필라그린의 부족은 비정상적인 피부장벽의 형성을 초래[22]한다는 다수의 연구가 보고되어 있다. 따라서 노화가 진행되면 프로필라그린과 필라그린의 양이 감소하여 수분손실이 발생하게 되는데, 본 연구에서는 COE가 필라그린의 생성을 증가시키는지를 확인한 결과는 Fig. 3과 같다.

Fig. 3은 UVB 자극을 준 세포에 COE 5, 10, 20μg/mL의 농도로 처치하였을 때 필라그린의 생성은 약 65, 68, 72%로 농도 의존적으로 증가하였다. 이는 COE가 항주름억제 효과로 노화를 지연시킬 뿐 아니라 필라그린의 생성을 촉진함으로써 주름생성을 지연시키는 역할을 하는 기능성 화장품 소재로서의 효과를 가질 것으로 사료된다.

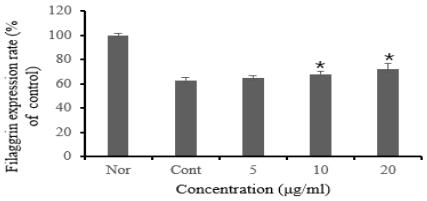

Fig. 3. Filaggrin synthesis assay on UVB-stimlated HaCaT cells from 99% Ethanol extract of Chamaecyparis obtuse. Values without a common letter in each week are significantly different ($p < 0.05$) using one-way ANOVA and Duncan's multiple range test.

3.4 MTT assay에 의한 세포 독성 측정

Yellow tetrazolium salt MTT는 담황색 기질로서 살아있는 세포의 미토콘드리아 내의 reductase에 의해 환원되어 formazan을 생성하는데 사 세포에서는 형성되지 않고 살아있는 세포의 수가 많을수록 formazan의 생성도 많아지고 세포의 성장을 측정할 수 있다[23]. 섬유아세포에서의 COE의 세포에 미치는 독성을 확인하기 위하여 MTT assay를 실시한 결과는 Fig. 4에 나타내었다.

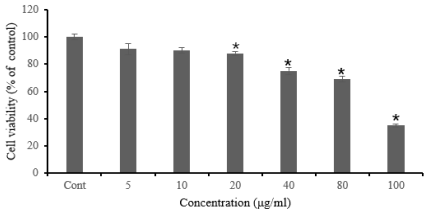

Fig. 4. Cell toxicity measurement by MTT assay on UVB-stimulated HaCaT cells from 99% Ethanol extract of Chamaecyparis obtuse. Values without a common letter in each week are significantly different ($p < 0.05$) using one-way ANOVA and Duncan's multiple range test.

Fig. 4는 CCD-986sk에 대하여 5, 10, 20μg/mL의 농도에서 약 99.0, 90.5, 90.8%의 세포생존율을 나타내어 이 추출물이 세포에 미치는 독성은 거의 없는 것으로 확인되었다.

3.5 Pro-collagen type I 생성 및 MMPs 발현 억제

진피의 90%를 차지하고 있는 콜라겐은 collagen type I과 II, III, IV, V가 있으며, 세포 내에서 Pro-collagen (프로-콜라겐)이라는 전구물질로 합성된 후 콜라겐 섬유

로 중합되기 위해 세포 외로 분비된다. 이 중 collagen type I 대부분이 주요 구조 단백질이다[24]. 세포외기질을 분해하는 단백질 분해효소인 MMP group으로 약 20여 종이 있는데 collagenase group(MMP-1, -8, -13), stromelysin group(MMP-3, -10, -11), gelatinase group(MMP-2, -9)이 있다[25]. MMP-1은 그 중에서 주로 type I과 III형을 분해하는 콜라겐나아제이다.

본 연구에서는 Pro-collagen type I의 생성과 MMP-1의 발현억제를 확인하였고, 결과는 Fig. 5와 같다.

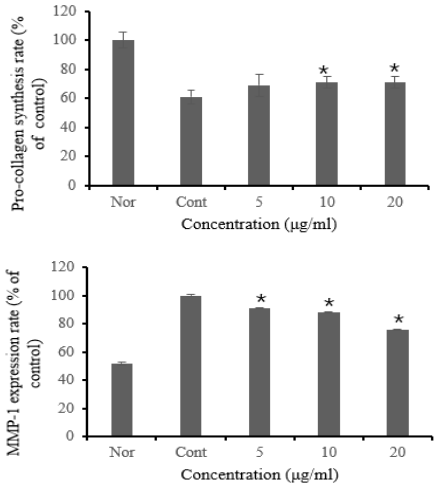

Fig. 5. Pro-collagen type I synthesis (A) and MMP-1 expression (B) assay of Chamaecyparis obtuse extracts. Values without a common letter in each week are significantly different ($p < 0.05$) using one-way ANOVA and Duncan's multiple range test.

Fig. 5는 UVB 자극을 준 세포에 COE를 5, 10, 20μg/mL의 농도로 처치하였을 때 Pro-collagen type I의 생성은 약 88.0, 90.0, 90.2%로 증가하였고, MMP-1은 91, 88, 76%로 발현이 억제되었다. 결과적으로 편백 수피 99% COE Pro-collagen type I의 생성은 농도 의존적으로 증가시키고 MMP-1의 발현은 농도 의존적으로 억제하였다.

4. 결론

본 연구에서는 천연재료인 편백나무 수피에서 추출한 천연추출물이 자외선에 의한 피부 노화를 보호할 수 있는 소재로 조사하였는데, COE의 엘라스티나아제 저해효과에 대한 실험결과는 500과 1,000μg/mL의 농도에서 약 83.5%, 90.3%의 저해활성을 보였으며, 콜라겐나아제 억제능 실험결과는 500과 1,000μg/mL의 농도에서 약 99.4%와 108.9%의 매우 우수한 저해효과를 보였다. 섬유아세포에서의 COE가 세포에 미치는 독성을 확인하기 위하여 MTT assay를 실시한 결과는 CCD-986sk에 대하여 5, 10, 20μg/mL의 농도에서 약 99.0, 90.5, 90.8%의 세포생존율을 나타내어 이 추출물이 세포에 미치는 독성은 아주 미비한 것으로 확인되었다. 또한 Pro-collagen type I의 생성과 MMP-1의 발현억제를 확인하였고, UVB 자극을 준 세포에 COE 5, 10, 20μg/mL의 농도로 처치하였을 때 Pro-collagen type I의 생성은 약 88.0, 90.0, 90.2%로 증가하였고, MMP-1은 91, 88, 76%로 발현이 억제되었다. COE가 필라그린의 생성을 증가시키는지를 확인한 결과, UVB 자극을 준 세포에 COE 5, 10, 20μg/mL의 농도로 처치하였을 때 필라그린의 생성은 약 65, 68, 72%로 농도의존적으로 증가하였다. 따라서 본 실험에서 진행된 추출물에 대한 필라그린의 발현증가는 노화의 지연을 도와줄 수 있고, 이러한 결과는 COE가 주름생성을 지연시키는 역할과 피부 노화융합 억제하는 기능성 화장품 소재로서의 효과를 가질 것으로 사료된다. 본 연구를 바탕으로 필라그린의 합성이 항주름 효과인 MMP의 발현억제에 미치는 기전을 더 연구하고자 한다.

REFERENCES

[1] B. A. Gilchrest. (1990). Skin aging and photoaging. *Dermatol. Nurs. 2,* 79-82.

[2] T. Y. Ha. (2006). Development of functional food materials for healthy Life. *Korea Journal crop Sci., 51,* 26-39.

[3] H. Sies. (2003). Biochemistry of oxidative stress. *Angewandte Chemie International Edition in English. 25(12),* 1058-1071.

[4] J. Fantone & P. Ward. (1982). Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions. *The American Journal of Pathology, 107(3),* 395.

[5] S. Park. (2003). Protective effect of Isoflavone, genistein from soybean on singlet oxygen induced photohemolysis of human erythrocytes. *Korean Journal of food science and technology, 35(3),* 510-518.

[6] J. H. Jang, C. Lee, S. C. Kim, J. W. Chung & C. I. Park.

(2010). Protecive effect of marine natural products against UVB-induced damages in human skin fibroblast via antioxidant mechanism. *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea, 36(1)*, 79.

[7] W. Ma, M. Wlaschek, P. Brenneisen, L. A. Schneider, C. Hommel, C. Hellweg, H. Sauer, M. Wartenberg, G. Herrmann, C. Meewes, P. Boukamp & K. Scharffetter-Kochanek. (2002). Human dermal fibroblasts escape from the long-term phenocopy of senescence induced by psoralen photoactivation, *Experimental Cell Research, 274*, 299.

[8] S. N. Park. (1997). Skin aging and antioxidant, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea, 23(1),* 75.

[9] R. G. Allen & M. Tresini. (2000). Oxidative stress and gene regulation, *Free Radical Biology and Medicine, 28(3)*, 463.

[10] Y. R. Cha. (2012). Effect of cypress extract on skin changes in Chamaecyparis obtusa, *Seokyeong*. 11-12.

[11] Rural Development Administration. (2007). Development of Technology for the Use of Antibacterial, *Vibacterial and Mammatic Functional Materials in Tree Oil*, 20-22.

[12] H. J. Kim. (2014). The Efects of Inhibitory Efect of NiricOxide Production by Hinoki Cypress Leaf Oil with Superfcial Extraction and Lymph Drainage on the Facil Skin, *Nambu University*. 2-5.

[13 R. J. Cannell, S. J. P, A. M. Kellan, Owsianks & J. M. Walker, (1988). Results of a large scale scrren of microalgae for the production of protease inhibitors. *Planta Med. 54,* 10-14.

[14] W. Widowati, A. P. Rani, R. A. Hamzah, S. Arumwardana, E. Afifah, H. S. W. Kusuma, D. D. Rihibiha. H. Nufus & A. N. Amalia. (2017). Antioxidant and antiaging assays of Hibiscus sabdariffa extract and its compounds. *Nat Prod Sci., 23,* 192-200.

[15] Y. Jia, M. Yang & I. S. Park. (2015). Antioxidative activities and inhibition effects on tyrosinase and elastase by water extracts of Allium sp. *Korean J. Food Nutr., 28,* 247-252.

[16] D. H. K, J. W. K & K. S. Y. (2011). Antioxidant activities of extracts from fermented mulberry (Cudrania tricuspidata) fruit, and inhibitory actions on elastase and tyrosinase. *Korean J. Food Preserv., 18,* 236-243.

[17] G. R. Fanger, N. L. Johnson & G. L. Johnson. (1997). MEK kinases are regulated by EGF and selectively interact with ac/Cdc42. *EMBO J. 16,* 4961-4972.

[18] E. G. Min, Y. H. Kim, S. I. Kum & Y. H. Han. (2004). Inhibition of growth and collagenase activity of the extract from Salvia miltiorrhiza against microorganisms causing periodontal diseases. *The Korea J. Microbiol., 40(2)*, 111-114.

[19] J. Gross & C. M. Lapiere. (1962). Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. *Proc Natl Acad Society. 54*, 1197-1204.

[20] G. J. Fisher, Z. Q. Wang, S. C. Datta, J. Varani, S. Kang & J. J. Voorhees. (1997). Pathophysiology of premature skin aging induced by ultraviolet light. *N Engl. J Med. 337,* 1419-1428.

[21] C. E. Brinckerhoff, J. L. Rutter & U. Benbow. (2000). Interstitial collagenases as markers of tumor progression. *Clin Cancer Res. 6,* 4823-4830.

[22] P. M. Elias, S. K. Ahn, M. Denda, B. E. Brown, D. Crumrine, L. K. Kimutai, L. Kömüves, S. H. Lee & K. R. Feingold. (2002). Modulations in epidermal calcium regulate the expression of differentiation specific markers. *J. Invest Dermatol. 119*, 1128-1136.

[23] A. Sandilands, C. Sutherland, A. D. Irvine, McLean W. H & M. c. Lean. (2009). Filaggrin in the frontline: role in skin barrier function and disease. *J. Cell Sci., 122,* 1285-1294.

[24] J. Koyama, I. Horii, K. Kawasaki, Y. Nakayama, Y. Morikawa, T. Mitsui & H. Kumagai. (1984). Free amino acids of stratum corneum as a biochemical marker to evaluate dry skin. *J. Soc Cosmet Chem., 35*, 183-195.

[25] A. V. Rawlings & C. R. Harding. (2004). Moisturization and skin barrier function. *Dermatol Ther. 17(Suppl 1),* 43-48.

당 수 민(Su-Min Dang) [정회원]

· 2017년 2월 : 대구한의대학교 보건학과(보건학 석사)
· 2010년 2월 : 대구한의대학교 보건학과(보건학박사)
· 2012년 3월 ~ 현재 : 영남이공대학교 뷰티스쿨 교수
· 관심분야 : 화장품학, 피부관리, An-ti aging
· E-Mail : dang6751@ync.ac.kr