

사상자(*Torilis Fructus*)가 섬유아세포의 Procollagen 생합성과 Matrix metalloproteinase-I(MMP-1)의 활성에 미치는 영향

구본석* · 황의일 · 소승호 · 이성계 · 한경호 · 김나미
KT&G중앙연구원 건강식품연구소

Effect of *Torilis Fructus* on Procollagen Biosynthesis and Activity of Matrix Metalloproteinase-I(MMP-1) in Human Dermal Fibroblast

Bon Suk Koo*, Eui Il Hwang, Seung Ho So, Seong Kye Lee, Gyeong Ho Han and Na Mi Kim
Health Food Research Group, KT&G Central Research Institute, Yuseong, Daejeon 305-805, Korea

Abstract – Skin wrinkle formations are associated with collagen synthesis and matrix metalloproteinase-I(MMP-1) activity. This study was carried out to find out skin wrinkle reducing components in *Torilis Fructus*. *Torilis Fructus* were extracted with 70% ethanol and the ethanol extracts were systematically fractionated with *n*-hexane, ethylacetate, *n*-butanol and distilled water. Among them, antiwrinkle component from *n*-hexane fraction was purified by several column chromatographies and HPLC, which identified as torilin by ¹H-NMR, ¹³C-NMR and ESI-MS. To determine cell viability, collagen biosynthesis and MMP-1 activity, human dermal fibroblast was treated with 1-5 ppm concentrations of *Torilis Fructus* extract fraction and torilin. Cell viability was showed 84-102% at all group treated with 1-5 ppm. Collagen synthesis was increased in all group, especially torilin-treated group was highest amount. Active forms of MMP-1 were decreased in all group. From these results, we consider that *Torilis Fructus* have several antiwrinkle components and torilin may be one of the effective components.

Key words – human dermal fibroblast, collagen biosynthesis, matrix metalloproteinase-I, torilin, *Torilis Fructus*

사상자(*Torilis Fructus*)는 산형과(Umbelliferae)에 속하는 사상(*Torilis japonica*)의 과실로써 식품공전상에 식품원료로 분류되어 있으며, 관절염, 피부질환, 음부양통, 신경통 등의 유효성이 알려져 있다.¹⁾ 한의서에는 습창, 완선, 향진균, 항바이러스, 항트리코모나스, 가려움증 등의 피부질환과, 성호르몬 유사 작용, 성기능 강화 등에 효과가 있는 것으로 기록되어 있다.^{2,3,4,5)} 사상자의 성분에 관한 연구를 살펴보면 Nakazaki 등⁶⁾이 에탄올 추출물에서부터 불활성 휘발성분으로서 sesquiterpene acetate인 torilin(C₂₂H₃₂O₅)을 분리하였고 Itokawa 등⁷⁾은 벤젠추출물에서 torilolide(C₂₀H₂₈O₄)와 oxytorilolide(C₂₀H₂₆O₃)를 분리하였다. 이 등⁸⁾은 정유성분이 0.39-0.47% 함유되어 있고 stigmasterol, cholesterol이 주를 이룬다고 보고하였다. Fugita 등⁹⁾은 53종의 정유 성분을 분리하였고, germacrene-D(57.9-71.8%), α-humulene(2.4-13.2%), bicyclogermacrene(1.9-5.4%), β-caryophyllene(1.5-4.6%)와 δ-cadinene(1.0-1.9%)가 주를 이루고 있다고 보고하

였다. Ryu 등¹⁰⁾은 guaiane type의 sesquiterpene으로서 1β-7α-10αH-11-acetoxy-guaia-4-en-3-one을 분리하여 deangeloyloxy torilin 임을 확인하였으며 Kitajima 등¹¹⁾은 메탄올 추출물에서 eudesmane-type sesquiterpenoide으로서 4(15)-eudesmene-1β,4α-diol과 4α,15-epoxyeudesmane-1β,6α-diol을 분리하였다. 사상자의 효능에 관한 연구로는 Itokawa 등¹²⁾이 에탄올 추출물에서 히스타민 등에 의해 야기되는 회장 수축을 억제하여 진경작용이 있음을 보고하였고, 김 등¹³⁾은 torilin을 분리하여 진통소염작용이 있음을 밝혔다. 최근에는 주로 torilin을 대상으로 하여 MMP-9의 활성 감소에 의한 anti-invasive activity,¹⁴⁾ 혈관신생억제 작용,¹⁵⁾ testosterone 5-α-reductase 저해작용,¹⁶⁾ 항부정맥효과¹⁷⁾를 밝혔고, sesquiterpenoide의 작용에 의한 암세포에 대한 cytotoxic effect¹⁸⁾를 보고한 바 있다. 본 연구실에서는 식물 자원으로부터 주름예방 효과를 나타내는 소재를 탐색한 결과 사상자 추출물에서 높은 효과를 얻었으며, 이의 유효물질을 확인하기 위하여 사상자의 용매별 분획물과 torilin을 대상으로 피부섬유아세포의 콜라겐 생합성량과 콜라겐의 분

*교신저자 (E-mail): bskoo@ktng.com
(FAX): 042-861-1949

해효소인 MMP-1의 활성화에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

사상자 추출물 제조 - 실험에 사용된 사상자는 금산의 한 약재상에서 2007년 3월에 구입하여 사용하였으며, 본 연구실에서 외형, 선택 등 외관을 확인하였고, 표본은 KT&G 중앙연구원 건강식품연구소에 보관하고 있다. 사상자 100g에 증량의 6배량의 70% 에탄올 600 ml를 가하고 85°C에서 4시간 동안 추출한 다음 원심분리(5,000 rpm, 20분, 실온)한 후 상정액을 감압농축하여 수분함량 40%의 엑기스를 제조하고 동결건조하여 약 7.6 g의 분말을 얻었다. 용매별 분획물은 에탄올 추출분말 7.6 g을 100 ml의 10% MeOH에 녹인 후 동량의 헥산으로 2회 추출하여 감압농축한 후 헥산 분획물 2.2 g을 얻었고, 이 후 물층에 에틸아세테이트를 100 ml 가하여 2회 추출하고 감압농축하여 에틸아세테이트 분획 0.8 g을 얻었으며 물층에 다시 부탄올 100 ml를 가하여 2회 추출하고 감압 농축하여 부탄올분획물 1.1 g을 얻었다. 최종적으로 물층을 감압 농축하여 물분획물 3.5 g을 얻었다.

Torilin의 분리 - Torilin은 사상자의 헥산 분획물로부터 여러 가지 컬럼 크로마토그래피 및 HPLC를 이용하여 분리하였으며 torilin의 분리 정제 방법 및 구조 동정 결과는 본 실험실의 황 등¹⁹⁾이 보고한 바와 같다.

세포 배양 - 세포는 Human dermal fibroblast를 Cambrex(UK)로부터 구입하여 사용하였다. 구입한 세포를 DMEM/F12(3:1) 배지에 10% Fetal bovine serum(FBS), 1% penicillin- streptomycin을 첨가하여 37°C, 5% CO₂ 조건하에서 배양하고 trysinization으로 계대배양한 뒤 6-10세대 세포를 실험에 이용하였다.

세포 증식 및 세포 독성 평가 - 세포 독성은 Loosdrecht의 방법²⁰⁾을 사용하여 MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay를 수행하였다. 세포를 2×10⁴ cells/well 농도로 96-well plate에 접종한 후, 각 well에 시료를 1-5 µg/ml의 농도(에탄올 추출물과 용매분획물 5 µg/ml, torilin 1 µg/ml)로 첨가하여 CO₂ 배양기에서 24시간 배양하였다. 이렇게 배양된 세포에 MTT 용액을 첨가하여 4시간 반응시킨 후, fomazan을 형성하여 흡광도를 측정하였다.

콜라겐 생합성 정도 - 세포를 2×10⁶ cells/well 농도로 6-well plate에 접종한 후, 각 well에 시료를 1-5 µg/ml의 농도로 첨가하여 CO₂ 배양기에서 24시간 배양하였다. 이렇게 실험한 세포의 배양액을 수거하여 실험에 사용하였다. 세포 배양액내 콜라겐 생합성 정도는 procollagen type-1C peptide (PIP) EIA kit(Takara)을 사용하여 프로펩타이드의 양을 측정하였다.²¹⁾

MMP-1 저해 활성 - 세포를 2×10⁶ cells/well 농도로 6-well plate에 접종한 후, 각 well에 시료를 1-5 µg/ml의 농도로 첨가하여 CO₂ 배양기에서 24시간 배양하였다. 이때 MMP-1의 활성을 높이기 위하여 TNF-α를 10 ng/ml의 농도로 첨가하였다. 이렇게 처리된 세포의 배양액을 수거하여 실험에 사용하였다. Gross B. E. 등²²⁾의 방법에 따라 Matrix Metalloproteinase-1 Biotrack activity Assay Kit(Amersham Bioscience)을 이용하여 plate reader로 흡광도를 측정하고 표준곡선을 통해 계산식을 구하여 세포 배양액 내 MMP-1 활성을 수치화 하였다.

통계처리 - 측정된 결과 치는 평균±표준편차의 형태로 나타내었고 sigma plot program을 이용하여 paired t-test로 유의성을 검정하였다.

결과

세포증식 및 세포독성

각각의 실험물질을 1-5 ppm 농도로 세포에 처리하여 배양했을 때 세포증식정도를 조사한 결과는 Fig. 1과 같다. 에탄올 추출물은 정제수를 첨가한 대조군에 비하여 97%의 생존율을 나타내었고 용액별 분획에서는 헥산 분획을 제외하고는 84%-102%의 생존율을 나타내어 독성이 없음을 확인하였으며, 상기 농도로 이후의 실험을 진행하였다.

콜라겐 생합성정도

Human dermal fibroblast에 시험물질을 처리하여 배양한 후 콜라겐 생합성량을 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. 콜라겐 생합성량이 대조군은 77.93 ng/ml이었으며 에탄올 추출물 처리군은 106.33 ng/ml 수준이었다. 용매별 분획물의 경우에는 부탄올, 에틸아세테이트, 물분획, 헥산 분획 순으로 콜라겐 생합성이 증가함을 확인하였다. Torilin의 경우 130.34 ng/ml으로 콜라겐 생합성을 가장 많이 증가시키는 결과를 나타내어 사상자 중 유효성분임을 알 수 있었다.

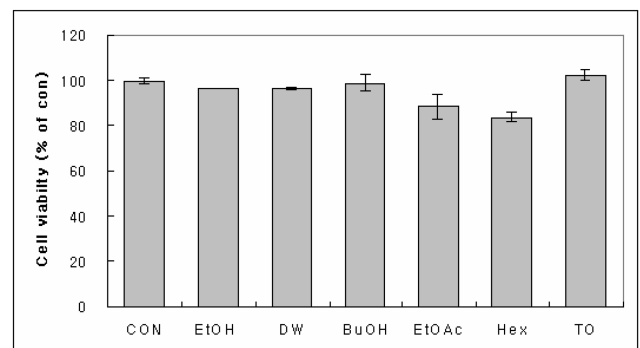


Fig. 1. Cell viabilities of human dermal fibroblast treated with Torilis Fructus ethanol extract (EtOH), 4 fractions (DW, BuOH, EtOAc, HEX) from EtOH extract and torilin(TO). EtOH extract and all fractions treated with 5 ppm and torilin treated with 1 ppm.

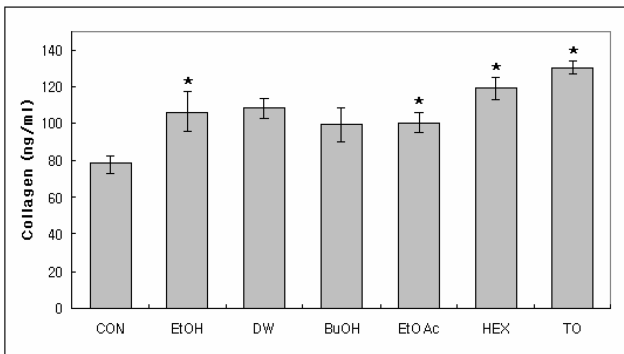


Fig. 2. Procollagen synthesis of human dermal fibroblast treated with *Torilis Fructus* ethanol extract (EtOH), 4 fractions (DW, BuOH, EtOAc, HEX) from EtOH extract and torilin (TO). The procollagen contents in culture media were determined by ELISA method. The paired t-test was carried out between control group and sample treated groups (* $P < 0.05$).

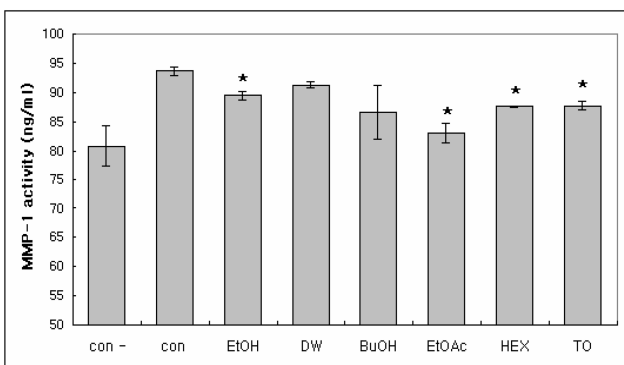


Fig. 3. MMP-1 activities in human dermal fibroblast incubated with *Torilis Fructus* ethanol extract (EtOH), 4 fractions (DW, BuOH, EtOAc, HEX) from EtOH extract and torilin(TO). $TNF-\alpha$ (10 ng/ml) was treated for MMP-1 activation except congroup. The MMP-1 contents in culture media were determined by ELISA method. The paired t-test was carried out between control group and sample treated groups (* $P < 0.05$).

MMP-1 활성

각각의 시험물질로 배양한 세포의 배양액을 수거하여 MMP-1 농도를 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. Tumor necrosis factor alpha($TNF-\alpha$)를 처리하지 않은 군과 처리한 군은 각각 80.85 ng/ml, 93.64 ng/ml의 MMP-1을 생산하여, $TNF-\alpha$ 에 의해 활성화된 MMP-1의 양이 증가하였음을 확인하였다. 용매분획별 시료의 경우에는 $TNF-\alpha$ 를 처리한 에칠아세테이트 분획이 83 ng/ml, torilin 분획이 87 ng/ml, 물 분획이 93 ng/ml로 나타나 대조군과 비교하여 3-12% 수준으로 MMP-1의 활성을 저해하는 효과를 보였다.

고찰

피부의 구조를 살펴보면 외부로부터 표피, 진피, 피하지방층으로 구성되어 있다. 표피는 대사상 활동성인 중층 편평 각화 상피로서 주로 각질형성세포로 구성되어 있으며 멜라닌 세포, Langerhans 세포, Merkel 세포가 존재한다. 진피는 주로 교원질(collagen)과 탄력섬유(elastic fiber)로 구성되어는 결합조직과 기질로 이루어지며 그 속에 신경, 혈관, 림프관, 근육, 모낭-피지-아포크린단위 및 에크린단위를 내포하고 있다. 진피는 두께가 표피의 15-40배이며 섬유아세포가 가장 많고 비만세포, 조직구, Langerhans세포 등이 존재하며 섬유아세포에 의해 진피의 구성성분인 교원질과 탄력섬유, 기질이 만들어진다. 콜라겐은 피부전체의 75%정도를 차지하며 80-85%의 type I collagen과 15-20%의 type III collagen으로 이루어진다. 콜라겐분자는 tropocollagen이라 불리며 섬유아세포에서 triple helix의 폴리펩타이드로 생산되어 분자측면끼리 cross-link되어 피부에 장력을 주게 된다.

탄력섬유는 90%의 elastin과 미세 섬유단백질로 이루어진다. 섬유아세포에서 미세섬유단백질이 만들어진 다음 나중에 tropoelastin polypeptide와 결합하여 합성된다. 기질은 진피의 섬유성분과 세포들의 사이를 채우는 세포의 물질로 hyaluronic acid, dermatan sulfate, chondroitin-6-sulfate, heparan sulfate 등으로 이루어진 glycosaminoglycan이 polypeptide와 결합한 mucopoly saccharide이다. 피부의 노화는 나이가 많아짐에 따라 섬유아세포 수가 감소하게 되고, 자외선과 같은 외부요인에 의해 여러 가지 신호체계를 활성화시킴으로써 염증반응이 일어나고 피부구성성분이 손상되어 진행된다.²³⁾ 피부주름의 발생 기작이 확실하게 밝혀져 있지는 않지만 노화가 진행됨에 따라 피부의 주 구성성분인 교원질의 합성은 감소되고 분해가 촉진되어 결국 교원질의 결핍이 일어나 주름이 발생된다고 알려져 있다. MMPs은 기질단백질을 분해하는데 중요한 역할을 하며 MMP-1은 사람에게서 폭 넓은 활성을 가지며 type-I, II, III, IV 교원질을 분해한다. 한편, 진피 내의 섬유아세포는 교원질과 탄력섬유를 형성하고 피부의 염증반응에도 관여하여 세포내 물질대사나 세포노화에 대한 연구에 이용되고 있다.^{24,25)} 본 실험에서는 사상자의 피부주름예방 효과를 입증하기 위하여 섬유아세포를 이용하여 세포증식과 콜라겐 생합성 정도, MMP-1의 활성저해 정도를 조사하였다. MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) 2,5-diphenyltetrazolium bromide)는 담황색의 기질로서 생 세포의 미토콘드리아 내의 호흡쇄효소에 의해 개열하고 암적색의 formazan을 생성한다. 죽은 세포에서는 반응이 일어나지 않으므로 이 formazan의 생성량을 생 세포 측정용에 이용한다.²⁶⁾ 시험물질을 1-5 ppm의 농도로 처리하여 세포를 배양하였을 때 84% 이상의 세포 증식율을 나타내어 크게 독성이 없음을 확인하였다. 콜라겐은

프로콜라겐이라는 전구물질의 형태로 합성되며 프로콜라겐은 아미노 말단과 카르복시 말단에 프로펩티드라는 펩티드 염기서열을 포함한다. 프로펩티드의 기능은 소포체내에서 프로콜라겐 분자의 folding을 도와줌과 동시에 콜라겐 중합 반응이 일어날 때 콜라겐 분자로부터 절단, 분리된다고 알려져 있다. 그래서 분리된 프로펩타이드의 양을 측정함으로써, 세포내에서의 콜라겐 생합성정도를 파악할 수 있다.²¹⁾ 콜라겐 생합성량은 사상자의 에탄올 추출물에서 136.4% 증가하였고 용매별 분획 처리했을 때에도 127.5-152.6% 증가하여 그 활성을 확인하였다. 사상자의 대표성분으로 알려져 있는 torilin을 처리했을 때 167.2%로 가장 큰 증가율을 나타내었다. 콜라겐 등의 기질단백질의 합성에 영향을 미치는 인자는 매우 복잡하지만, 활성산소에 의해 여러 가지 cytokine이 생성되고 다수의 신호전달체계를 활성화시킴으로써 activator protein-1(AP-1)과 nuclear factor kB(NF-kB)를 활성화시켜 염증반응을 일으키게 되면 결국 기질단백질의 합성이 저해되는 것으로 알려져 있다.²⁷⁾ 사상자는 동물에 대해 cyclooxygenase와 백혈구 유주억제 작용에 의한 항염증 작용이 있으며 그 유효성분이 torilin임을 보고한 바 있다.¹³⁾ 본 실험에서 사상자의 torilin이 콜라겐 생합성을 대조군의 약 162% 정도로 증가시킨 것은 항염증작용에 의한 효과일 것으로 추측되며 이에 대한 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다. 체내에서 생성되는 수종의 MMPs 가운데 MMP-1은 콜라겐에 특이적으로 작용하는 protease로서 MMP-1의 활성을 억제하여 콜라겐 분해를 감소시키며, 피부조직의 탄력을 유지하고 주름생성을 예방할 수 있는 것으로 알려져 있다.²⁷⁾ MMP family와 사상자의 상관관계에 대한 연구로는 HT1080 Human fibrosarcoma cell에 처리했을 때 MMP-9의 발현을 억제시켜 anti-invasive activity가 있음을 보고한 예가 있다.¹⁴⁾ 본 실험에서 사상자 추출물은 MMP-1의 활성을 감소시켜 콜라겐의 분해를 억제하는 결과를 얻었다. MMP-1의 활성은 activator protein-1(AP-1)의 활성화와 복잡한 transforming growth factor (FGF)- β 의 signaling에 의해서 조절되는 것으로 알려져 있다.²⁸⁾ 따라서 사상자 추출물의 MMP-1의 활성 억제 기작에 대해서는 추후연구가 진행되어야 하겠다. 이상의 결과로 보아 사상자 추출물과 용매별 분획물은 세포독성에 큰 영향 없이 프로콜라겐의 합성을 증가시켰으며, MMP-1의 활성을 억제함으로써 피부 주름의 생성을 예방할 수 있는 가능성을 나타내었다. 또한 활성 물질의 탐색을 위해 사상자 핵산 층에서 분리한 torilin을 처리하여 세포를 배양했을 때 용매별 분획물에 비하여 프로콜라겐 합성을 크게 증가시켰으나, MMP-1 활성 억제는 핵산 분획물과 유사하였고 에칠아세테이트 분획에서 더욱 높아서 torilin 이외에 MMP-1의 활성을 저해하는 성분이 이 분획물에 있는 것으로 추정되어 현재 본 실험실에서 유효성분 구명을 위한 연구를 진행하고 있다.

결 론

사상자 추출물에서 피부주름예방 효과를 나타내는 유효성분을 찾기 위하여 사상자 추출물에서 사상자의 에탄올추출물과 이의 용매별 분획, 핵산분획에서 분리한 torilin 성분을 대상으로 human dermal fibroblast에 대한 콜라겐 생합성 정도와 matrix metaloproteinase-1(MMP-1) 저해 활성을 조사하였다. 실험에 사용된 시료는 1-5 ppm의 농도에서 세포독성이 없었으며, 콜라겐 생합성량은 torilin 처리구에서 가장 높았으나 MMP-1 저해 활성은 에칠아세테이트 분획과 핵산 분획 및 torilin 처리구에서 높은 것으로 나타났다. 이러한 연구결과를 종합하면 사상자 중에는 피부주름 생성을 감소시키는 성분이 다수로 존재하는 것으로 생각되며 torilin은 그 유효성분 중 하나로 사료된다.

인용문헌

1. 식품공전 (2004) 식품의약품안전청, 서울.
2. 김창민 (2001) 원색한약도감, **144**, 아카데미서적, 서울.
3. 정보섭, 신민교 (1990) 도해 향약(생약)대사전, **416**, 영림사, 서울.
4. 박중희 외 (2000) 상용약용식물도감, **196**, 신일상사, 서울.
5. 한대석, 유시명 (1964) 본초학, **181**, 동명사, 서울.
6. Nakazaki, M., Chikamatsu, H. and Maeda, M. (1966) The structure of torilin. *Tetrahedron Lett.* **37**: 4499-4504.
7. Itokawa, H., Matsumoto, H., Mizuno, K., Watanabe, K., Morita, M. and Itaka, Y. (1986) Structure of torilide and oxytorilide: Two novel germacranolides from *Torilis japonica* D. C. *Chem. Pharm. Bull.* **34**: 4682-4686.
8. Lee, M., S. and Ryu, K. S. (1978) Studies on the Constituents in the Fruits of *Torilis japonica* D.C. *Bull. KH Pharm. Sci.* **6**: 61-67.
9. Fujita S. (1990) Miscellaneous contributions to the essential oils of plant from various territories. II. On the components of essential oils of *Torilis japonica*(Houtt.) DC *Yakugaku Zasshi.* **110**: 771-775.
11. Kitajima J, Suzuki N, Tanaka Y. (1998) Guaiana- type sesquiterpenoid glycosides from *Torilis japonica*. *Chem. Pharm. Bull.* **46**: 1743-1741.
12. Itokawa H, Minashi S, Watanabe K, Natsumoto H, Hamanaka T. (1983) Studies on the constituents of crude drugs having inhibitory activity against contraction of the ileum caused by histamine of barium chloride. *Shoyakugaku Zasshi.* **37**: 223-228.
13. Lee, E.B, Kim, S.H, Kim, T.H. (1998) Anti-inflammatory activities of *Torilis japonica* fruit. *Kor. J. Pharm.* **29**: 384-390.
14. Kim, M. S., Baek, J. H., Park, M. T., Sohn, T. K., Kim, S. E., Lee, J. J. and Kim, K.W. (2001) Anti-invasive activity of torilin, a sesquiterpene compound isolated from *torilis*

- japonica*. *Onco Rep.* **8**: 359-364.
15. Kim, M. S., Lee, Y. M., Moon, E. J. Kim, S. E., Lee, J. J. and Kim, K. W. (2000) Anti-angiogenic activity of torilin, a sesquiterpene compound isolated from *Torilis japonica*. *Int. J. Cancer* **87**: 269-275.
 16. Park, W. S., Son, E. D., Nam, G. W., Kim, S. H., Noh, M. S., Lee, B. G., Jang, I. S., Kim, S. E., Lee, J. J. and Lee, C. H. (2003) Torilin from *Torilis japonica*, as a new inhibitor of testosterone 5 α -reductase. *Planta medica*, **69**: 459-461.
 17. Kwak, Y. G., Kim, D. K., Park, S. A., Park, H., Jung, Y. H., Yoo, D. J. and Eun, J. S. (2006) Torilin from *Torilus japonica* (Houtt.) D. C. blocks hKv 1.5 channel current. *Arch Pharm Res.* **29**: 834-839.
 18. Kim, H. S., Park, P. U., Kim, K. H. and Park K. S. (1995) Hemostatic action of *torilis fructus*. *Yakhak Hoeji* **39**: 55-60.
 19. Hwang, E. I., Lee, S. K., So, S. H., Koo, B. S., Han, G. H. and Kim, N. M. (2007) Isolation and development of quantitative determination of torilin from the *Torilis fructus*. (Submitted to *Kor. J. Pharmacogn.*)
 20. Loosdrecht AA, Nennie E, Ossenkoppele GJ, Beelen RH, Langenhuijsen MM. (1991) Cell mediated cytotoxicity against U937 cells by human monocytes and macrophages in a modified colorimetric MTT assay. A methodological study. *J Immunol Method*, **141**: 15-22.
 21. Parfitt AM, Simon LS, Villanueva AR, Krane SM. (1987) Procollagen type I carboxy-terminal extension peptide in serum as a marker of collagen biosynthesis in bone. Correlation with iliac bone formation rates and comparison with total alkaline phosphatase. *J. Bone Miner Res.* **2**: 427-436.
 22. Gross B. and Lapiere C. (1962) Collagenolytic activity in amphibian tissue a tissue culture assay. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **54**: 1197-1204.
 23. 대한피부과학회 교과서 편찬위원회 (1994) 피부과학, **17**, 고문각, 서울.
 24. Ihn, H. (2005) Scleroderma, fibroblast, signaling and excessive extracellular matrix, *Curr. Rheumatol. Res.* **7**: 156-162.
 25. Wulf, H. C., Sandby-Moller, J., Kobayasi, T., Gniadlecki, R. (2004) Skin aging and natural photoprotection. *Micron* **35**: 85-191
 26. Ukeda, H., Maeda, S., Ishii, T., Sawamura, M. (1997) Spectrophotometric assay for superoxide dismutase based on tetrazolium salt 3'-1-(phenylamino)-carbonyl-3,4 -tetrazolium]-bis(4-methoxy-6-nitro benzenesulfonic acid hydrate reduction by xanthine -xanthine oxidase. *Anal Biochem.* **5**: 206-210.
 27. Nagase, H. and Woessner JF Jr. (1999) Matrix metalloproteinases. *J. Biol. Chem.* **274**: 21491-21494
 28. Rittie, L. and Fisher, G J. (2002) UV- light-induced signal cascades and skin aging. *Ageing Research Review* **1**: 705-720.

(2007년 10월 29일 접수)