

UVB로 손상이 유도된 피부세포에 해양소재 추출물의 항노화 효능

이 찬 · 장 정 희 · 김 보 애* · 박 찬 익**,[†]

계명대학교 의과대학 약리학교실, *목원대학교 테크노과학대학 생의약화학부,

**대구한의대학교 화장품약리학과

(2012년 5월 20일 접수, 2012년 9월 12일 수정, 2012년 9월 19일 채택)

Anti-aging Effects of Marine Natural Extracts against UVB-induced Damages in Human Skin Cells

Chan Lee, Jung-Hee Jang, Bo-Ae Kim*, and Chan-Ik Park**,[†]

Department of Pharmacology, School of Medicine, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

*Division of Biomedical Chemistry & Cosmetics, College of Science & Technology, Mokwon University,

**Department of Cosmeceutical Science, Daegu Haany University

(Received May 20, 2012; Revised September 12, 2012; Accepted September 19, 2012)

요약: 피부는 끊임없이 외부환경에 노출되며 가장 주요한 스트레스 요인 중 하나는 자외선방사이다. 자외선 방사로 인하여 피부에 염증, 착색, 광노화 및 피부암을 포함하는 생물학적 영향을 끼치게 된다. 본 연구에서는 해양천연소재 (김, 다시마, 모려, 모자반, 미역, 석결명, 우뚝가사리, 청각, 톳, 파래)로부터 피부보호 항산화제를 조사하기 위해 자외선으로부터 기인된 세포보호 효과를 증명하였으며 세포독성, 산화에 의한 세포사멸, 항노화 효과에 대하여 평가를 실시하였다. 그 결과, 모자반, 한천, 석결명, 청각 에탄올 추출물을 처리한 군이 자외선으로 유도된 세포독성 및 세포사멸을 효과적으로 억제하는 것으로 나타났다. 또한 다른 실험에서 자외선에서 인한 세포사멸은 세포내 축적이나 ROS로부터 매개되지만 해양추출물을 처리함으로써 현저하게 감소되었다. 이러한 해양추출물의 보호효과 증가는 Type I collagen과 Type I procollagen에 의해 매개하는 것과 연관되는 것으로 사료된다. 이들의 결과는 해양추출물이 노화예방 및 항산화제로서의 우수한 특성으로 피부손상에 의한 산화적 스트레스에 대응하는 새로운 기능성 소재로서의 가능성을 가지는 것으로 평가된다.

Abstract: The skin is continuously exposed to environmental stresses. One of the most important stress factor is UV radiation. UV radiation causes a variety of biological effects on the skin, including inflammation, pigmentation, photoaging and cancer. Therefore in this study, we tried to search for skin-protective antioxidant materials from marine natural products (*Porphyra Thalli*, *Laminariae japonicae thallus*, *Ostreae Concha*, *Sargassum Thallus*, *Undaria thallus*, *Haliotidis Concha*, *Agar*, *Codium thalli*, *Hizikia fusiforme thalli*; HFE, Thalli) which exhibit protective activities against UVB-induced cytotoxicity and oxidative cell death and antiaging effects. As a results, UVB-induced cytotoxicity and cell death were effectively suppressed by treatment of *Sargassum Thallus*, *Agar*, *Haliotidis Concha*, *Codium thalli*, *Thalli* ethanol extracts. UVB-induced cell death was mediated by intracellular accumulation or ROS, which was significantly inhibited by treatment with marine natural products extracts. Also, The protective effect of these marine natural products seemed to be mediated by increased expression of type I collagen and Type I procollagen. These results suggest that marine natural products may have anti-aging effects new functional materials against oxidative stress-mediated skin damages.

Keywords: HS68 human skin fibroblast, ultraviolet B, marine natural extracts, antiaging, antioxidant

[†] 주 저자 (e-mail: cipark@dhu.ac.kr)

1. 서 론

피부는 인체에서 가장 큰 장기로서 표피층, 진피층 및 피하조직으로 구성되어 있으며 인체의 내부와 외부환경 사이의 장벽 역할을 수행한다. 기본 신진대사를 통해 외부로부터 체내를 보호하고 항상성을 유지하는 중요한 기능을 담당하고 있다[1,2]. 즉 피부는 인체의 가장 바깥부분에서 화학적, 물리적, 생물학적 피부 장벽기능을 통한 인체보호작용, 체온조절작용, 자극감지작용, 에너지 저장작용, 분비 및 흡수 작용, 비타민 D 합성 등의 많은 역할을 수행하고 있다. 반면 지속적인 스트레스 및 외부로부터의 자극에 반복하여 노출될 경우 1차적으로 가장 손상받기 쉬운 부분이기도 하다. 외부 자극의 주요 인자는 자외선, 매연, 불철 황사, 중금속, 병원성 미생물, 극한 날씨 등을 들 수 있으며, 이들은 피부의 산화적 스트레스를 유도하여 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)을 생성함으로써 항산화 시스템을 파괴하여 피부세포 손상 및 세포 사멸에 다다르게 된다[3]. 즉, 산화적 스트레스는 활성산소종의 발생과 항산화 방어 체계 간에 심각한 불균형이 초래되는 상황을 말한다. ROS는 산소기(oxygen radical) 뿐만 아니라 산소의 비자유기 유도체(non-radical derivatives of O₂)를 총칭하며 정상 산소성 개체(aerobic organism)는 ROS 발생과 항산화 방어체가 서로 균형을 이루고 있다. 그러나 superoxide, hydrogen peroxide 및 lipid peroxyl radical 등을 포함한 ROS는 피부세포의 염증반응을 야기시키며 직접적으로 세포 신호 전달 과정을 매개하고 조직 손상을 유발한다[4].

환경오염으로 인해 지표면에 도달하는 자외선의 양은 해마다 증가하고 있으나 삶의 질이 향상되면서 취미생활을 위한 야외활동 인구가 증가하고 있다. 또한 산업화된 사회에서는 서구화된 생활습관 및 스트레스와 같이 피부 건강을 위해하는 요소들 또한 증가하고 있어 피부건강을 증진시킬 수 있는 다양한 방법들이 활발하게 연구되고 있다[5,6]. 그중에서도 피부 건강을 해치는 요인 중의 하나인 자외선(UV)은 자연환경에서 쉽게 피부에 직접적으로 노출되므로 이에 대한 관심이 급증하고 있으며, 자외선은 피부 내의 활성산소 발생을 유도하고 세포내 항산화 물질의 저장을 방해하는 것으로 잘 알려져 있다. 자외선이 원인이 되어 노화를 촉진시키는 현상을 광노화(photoaging)라 하는데 보통 일광에 장기적으로 노출될 때 일어나는 현상이다[7]. 농업, 어업에 종사하는 경우 광노화가 심화되는 경향이 있는데 이는 햇볕 노출 하의 환경에서 일을 하는 직업의 특성상 피부노화가 촉진되어

굵은 주름, 피부 반점, 건조증 및 심하면 피부암으로 발생할 가능성이 높다[8]. 자외선은 그 파장에 따라 UVA (320 ~ 440 nm), UVB (280 ~ 320 nm) 및 UVC (200 ~ 280 nm)로 나누어지며, UVC는 대부분 오존층에서 흡수되어 지표에 다다를 확률이 UVA와 UVC보다 낮다. UVA는 표피 내에서의 흡수가 적고 UVB보다 좀더 피부 깊숙하게 침투할 수 있어 장기적인 피부 노화 시 피부 노화 현상을 유발한다. UVB는 주로 일광화상세포와 같은 표피의 변화를 일으키며 급성노출 시에는 피부 홍반, 작열감, 부종, 통증, 소양증이 나타난다. 그 다음에 피부 색소침착이 일어나며 표피가 비후되어는 현상으로 피부 표면의 유연성이 저하되고, 만성적으로 노출되면 피부의 노화와 육종현상이 유발된다. 그리고 UVB는 면역력 저하, DNA 손상, 피부암을 일으키는 주된 원인으로 작용되며 피부 세포내의 산화반응이 촉진되어 항산화 방어기전의 불균형을 초래하고 일련의 염증반응을 일으키게 된다. 따라서 환경적 스트레스로부터 피부세포를 보호하고 광노화를 억제하기 위해서는 산화적 스트레스로부터 활성산소를 제거할 수 있는 항산화 방어 메커니즘을 이해해야 하며, 이를 이용하여 인체 안전성이 높은 천연유래 성분으로부터 유용한 항산화 물질을 탐구하는 것이 중요하다[9]. 특히 해양 소재는 그 특유의 청정성으로 소비자들에게 긍정적으로 인식되어 있으며, 최근 다양한 해양 소재 추출물을 포함한 식품, 의약품, 의약부외품, 화장품의 개발이 두드러지고 있다. 화장품 분야에서는 천연소재의 향균, 피부미백, 주름개선, 항노화 효과에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있으며 실제로 제품화에 활용되고 있다[10]. 이에 본 연구는 UVB를 조사하여 손상을 유도한 섬유아세포에 라디칼 소거능이 뛰어난 해양 추출물을 적용하여 세포독성 및 사멸, 산화적 스트레스를 억제하고 세포 내 항산화 기능을 보호할 수 있는 천연 유래 항산화제의 효능효과를 규명하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험재료 및 시약

인간 피부 섬유아세포주(human skin fibroblast, HS68 세포주)는 ATCC (Rockville, MD, USA)로부터 분양받아 사용했으며, 세포배양을 위한 배지로서 DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium), FBS (fetal bovine serum) 및 항생제(penicillin/streptomycin)는 Gibco 사(Grand Island, NY, USA) 제품을 구입하여 세포실험에 사용하였다. 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate

(H2DCF-DA) 및 tetramethylrhodamine ethyl ester (TMRE)는 Invitrogen (Carlsbad, CA, USA)에서 구입하여 사용하였고, MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide]를 포함한 시약은 Sigma-Aldrich 제품(St. Louis, MO, USA)을 사용하였다.

2.2. 해양 소재의 추출

김(*Porphyra Thalli*: PTE), 다시마(*Laminariae japonicae thallus*: LJE), 모려(*Ostreae Concha*: OCE), 모자반(*Sargassum Thallus*: STE), 미역(*Undaria thallus*: UTE), 석결명(*Haliotidis Concha*: HCE), 우뚝가사리(*Agar*: AgE), 청각(*Codium thalli*: CTE), 툃(*Hizikia fusiforme thalli*: HFE), 파래(*Thalli*: ThE)는 경상북도 포항 죽도시장에서 구입하였고 에탄올 추출하여 획득하였다. 각각의 에탄올 추출물(ethanol extract : E/E)은 100 % 에탄올을 가하여 상온에서 72 h 동안 추출한 후 No. 2 filter paper (Nalgene, New York, NY, USA)로 여과하였다. 이후 여액을 진공회전농축기(EYELA, Tokyo, Japan)를 사용하여 농축하고, 동결 건조하였으며 사용할 때까지 -20 °C에서 보관하였다. 각 추출물의 최종 수율은 김(PTE/E) 0.58 %, 다시마(LJE/E) 1.19 %, 모려(OCE/E) 0.28 %, 모자반(STE/E) 0.29 %, 미역(UTE/E) 0.32 %, 석결명(HCE/E) 0.06 %, 우뚝가사리(AgE/E) 0.5 %, 청각(CTE/E) 0.73 %, 툃(HFE/E) 2.33 %, 파래(ThWE) 1.45 %이었다.

2.3. 세포배양

인간 섬유아세포주인 HS68 세포는 DMEM에 10 % FBS, 100 U/mL penicillin 및 100 µg/mL streptomycin을 혼합한 배지를 사용하였고, 37 °C, 5 % CO₂조건의 인큐베이터에서 배양하였다. 세포배양 배지는 2일마다 새로운 배지로 갈아주었다. 실험을 위하여 4 × 10⁴개/300 µL의 세포를 48-well 및 2 × 10⁶개/2 mL의 세포를 6-well plate에 접종하여 24 h 뒤 세포가 안정적으로 부착된 후에 에탄올 추출물을 처리하였다.

2.4. 자외선 조사

자외선 B 조사로 인한 세포독성 및 산화적 세포사멸에 대한 상기 해양 에탄올 추출물의 항노화 효능을 확인하기 위해서 자외선 B를 아래와 같은 조건으로 처리하였다. HS68 세포를 80 % 밀도가 되도록 배양한 뒤 배지를 제거하고 인산완충용액(phosphate buffered saline, PBS)으로 1회 세척한 다음 자외선 조사장치(BLX-E254,

Viber Lourmat, Paris, France)를 사용하여 각각 120 mJ/cm²의 자외선 B를 조사하였다. 자외선 조사 후 다양한 농도의 에탄올 추출물을 처리하여 24 h 배양하였다.

2.5. 세포생존율 평가

세포생존율을 측정하기 위하여 MTT assay를 적용하였다. HS68 세포를 48-well plate에 4 × 10⁴ cells/well로 분주한 다음 24 h 후에 FBS를 포함하지 않는 배지로 교환하여 24 h 동안 배양하였다. 해양 에탄올 추출물을 처리한 다음 12 h 후에 배지를 제거하고 PBS로 washing 하였다. 이후 PBS 200 µL를 well에 분주 후 자외선 B를 120 mJ/cm²로 조사하였다. 이후에 MTT solution (1 mg/mL)을 넣고 37 °C, 5 % CO₂ incubator에서 배양하였으며, 2 h 후에 MTT solution을 제거하고 생성된 formazan crystal을 DMSO에 녹여 ELISA microplate reader (Titertek Multiskan Automatic)로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.6. 미토콘드리아 막전압(Mitochondrial Transmembrane potential) 측정

TMRE dye를 사용하여 미토콘드리아 막전압을 측정하였다. HS68 세포(6 × 10⁴개/500 µL)를 chamber slide에 넣고 자외선 B를 조사한 후 해양 에탄올 추출물을 처리하여 37 °C 5 % CO₂ incubator에서 24 h 동안 배양하였다. 배지를 덜어낸 후 PBS로 2회 세척한 뒤 10 nM TMRE를 처리하여 37 °C에서 30 min 반응을 시킨 후 형광의 변화를 excitation 파장 540 nm 및 emission 파장 590 nm에서 fluorometer로 측정하였다.

2.7. 세포 내 활성산소종 생성 측정

세포 내부에 발생하는 활성산소는 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (H2DCF-DA)를 사용하여 측정하였다. H2DCF-DA는 친유성 물질로 세포 내부로 쉽게 통과되며 esterase에 의해 아세틸기가 가수분해 되어 수용성인 HDCF가 활성산소와 반응하여 형광을 띠는 DCF를 생성한다. 즉 이 물질의 형광강도를 측정함으로써 활성산소 생성량을 측정할 수 있다. 우선 HS68 세포에 120 mJ/cm² 강도의 자외선 B를 조사한 후 해양 에탄올 추출물을 처리하여 3 h 동안 배양한 다음 50 µM H2DCF-DA를 처리하여 37 °C에서 20 min 배양하였다. 20 min 뒤 PBS로 washing한 다음, DMSO로 세포를 lysis시켜 형광의 변화를 excitation 파장 485 nm 및 emission 파장 535 nm에서 fluorometer로 측정하였다.

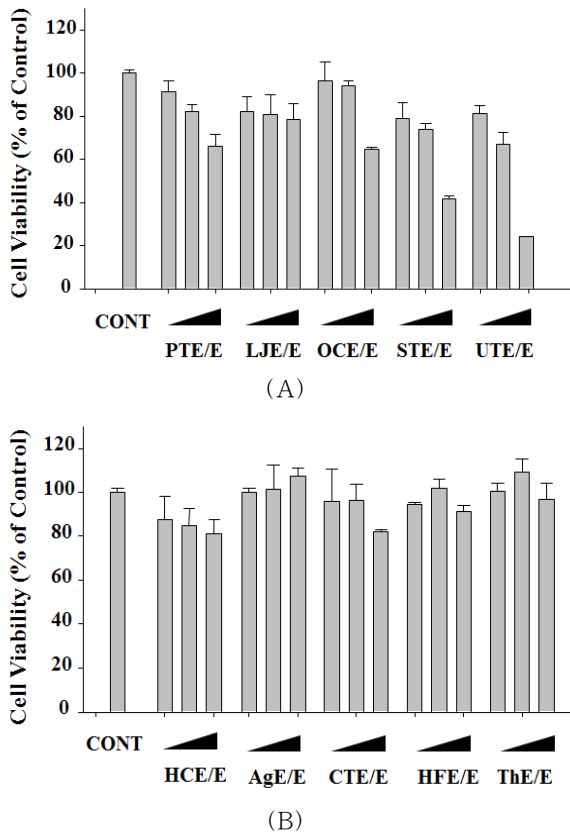


Figure 1. Effect of marine natural extracts on the cell viability in HS68 cells were treated with various concentrations (0, 10, 30, 100 $\mu\text{g/mL}$) of marine natural extracts for 24 h and cell viability was measured by MTT dye reduction assay. Values are represented as mean \pm S. D. (n = 3).

2.8. RNA 추출 및 RT-PCR (Reverse transcriptase-Polymerase Chain Reaction)

Invitrogen사의 TRIzol Reagent를 사용하여 명시된 방법에 따라 Total RNA를 추출하였다. 추출한 RNA로부터 cDNA 합성은 M-MLV Reverse Transcriptase를 사용하여 합성하였으며, 항산화 효소들의 유전자 발현을 비교 측정하기 위하여 PCR을 수행하였다. PCR 조건은 95 $^{\circ}\text{C}$ 에서 5 min 진행한 후 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 53 - 61 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min을 40 cycle 수행 후 72 $^{\circ}\text{C}$ 5 min 더 반응시켰다. 각 PCR 산물들은 edithium bromide를 처리한 1.5 % agarose gel에서 50 V로 전기영동한 후 Image analysis 장비를 사용하여 노화관련 유전자 발현을 측정하였으며, Quantity One Software를 이용해 정량분석하였다.

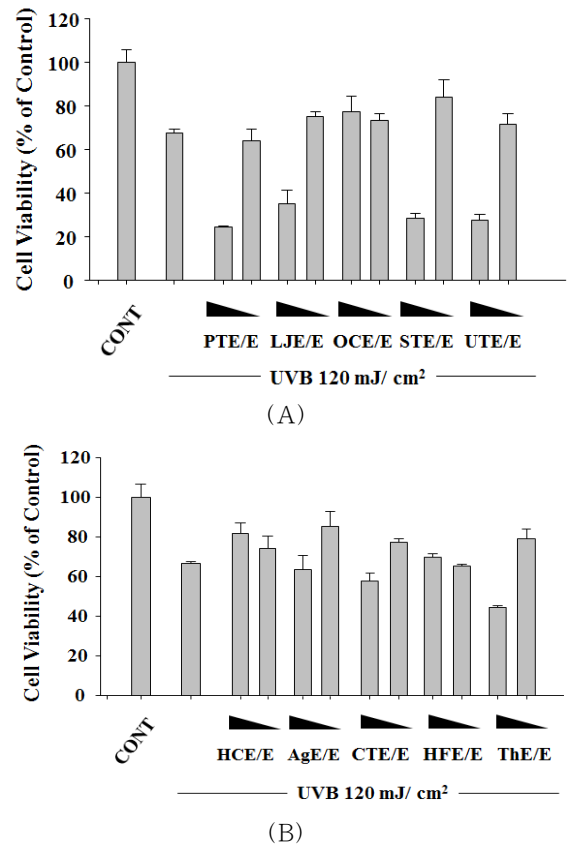


Figure 2. Anti-aging effect of marine natural extracts on the UVB-induced cytotoxicity. HS68 cells were exposed to UVB (120 mJ/cm^2) and treated with various concentrations (0, 10, 30, 100 $\mu\text{g/mL}$) of marine natural extracts for additional 24 h. Viable cells were determined by MTT reduction assay. Values are represented as mean \pm S. D. (n = 3).

3. 결과 및 고찰

3.1. 자외선 B로 인한 세포 손상으로부터 해양 추출물의 보호효과

자외선 B는 피부세포의 면역억제, 염증촉진, 유전자 손상을 통한 피부암 유발을 촉진하는 것으로 알려져 있으며, 특히 이러한 신호전달과정의 시작은 산화적 스트레스가 중요한 역할을 한다. 자외선 B로 손상이 유도된 HS68의 산화적 손상 및 독성에 대한 해양 에탄올 추출물의 보호효과를 평가하기 위하여, 우선 에탄올 추출물들을 단독으로 처리하고 세포생존에 미치는 영향을 살펴왔다. 다양한 농도의 해양 에탄올 추출물 에탄올 추출물 (0, 10, 30, 100 $\mu\text{g/mL}$)을 HS86 세포주에 24 h 동안 처

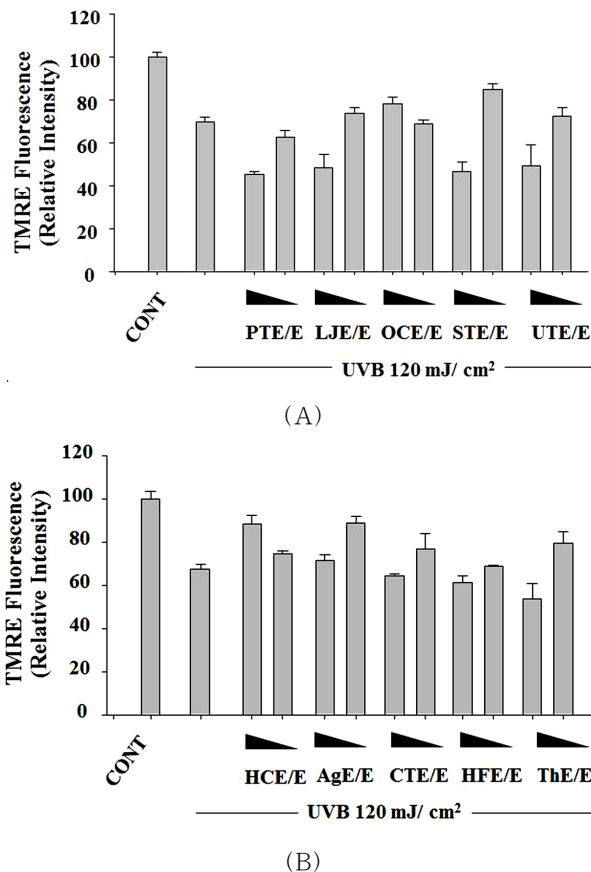


Figure 3. Anti-aging effect of marine natural extracts on UVB-induced dissipation of mitochondrial membrane potential (MMP). HS68 cells. Values are represented as mean \pm S.D. (n = 3).

리하고 MTT reduction assay로 세포생존 정도를 정량하였다. 그 결과 100 μ g/mL에서는 추출물 자체로 세포독성을 나타내었으며, 특히 모려 및 모자반, 미역에서 두드러지는 것으로 평가되었으며 50 % 이하로 세포 생존율이 감소하였다(Figure. 1). 우뭇가사리와 파래 에탄올 추출물 10, 30 μ g/mL을 처리한 군에서는 오히려 세포생존율이 증가하는 것으로 나타났다. 이후 실험에서는 에탄올 추출물의 자체 독성을 바탕으로 추출물의 농도를 10, 30 μ g/mL로 고정한 다음 자외선 B를 조사하여 세포독성에 미치는 해양 에탄올 추출물의 보호효과를 검토하였다.

자외선 B를 조사한 경우 세포생존율이 70 % 정도로 감소하였으며, 해양 에탄올 추출물을 함께 처리한 그룹에서 세포생존율이 증가됨을 확인할 수 있었다(Figure. 2). 이는 해양 에탄올 추출물이 섬유아세포에서 자외선 B 조사로 인한 세포독성 및 사멸을 감소시키는 효과가

있다는 것을 나타낸다. 자외선 B로 인해 피부세포가 손상이 유도되는 경우 세포사멸(apoptosis)이 일어나게 된다. 이는 생화학적 실험을 통하여 객관화하는 것이 가능하다. 일반적으로 세포사멸이 유발되는 과정에서 미토콘드리아는 손상을 받아 막전압(mitochondrial transmembrane potential, MMP)이 감소되며, 이후 세포사멸을 매개하는 다양한 단백질들이 미토콘드리아로부터 세포질(cytosol)로 유출되는 과정을 촉진하게 된다[11]. 그중 대표적인 것이 cytochrome c인데, 이는 다양한 하위 caspase를 활성화시켜 궁극적으로 apoptosis를 매개하게 된다. 그러므로 이후 실험에서는 세포사멸의 지표 중의 하나로 자외선 B로 인하여 손상된 세포내 미토콘드리아 막전압을 TMRE 형광염색시약을 사용하여 측정하였다. 그 결과 자외선 B를 조사한 경우 MMP가 25 % 정도 감소된 것에 반하여 해양 에탄올 추출물을 처리한 그룹에서는 MMP가 대조군과 유사한 수준으로 회복되는 것을 확인할 수 있었다(Figure. 3). 특히 모자반, 석결명, 우뭇가사리, 청각, 파래 추출물이 MMP 감소를 억제하는 효능이 뛰어났으며 특히 모자반과 우뭇가사리는 85 % 이상 회복되는 것을 확인하였다.

3.2. 자외선 B로 인한 세포 내 활성산소 축적에 대한 해양 추출물의 보호 효과

자외선 B가 피부세포에 조사되는 경우 과산화수소(hydrogen peroxide, H_2O_2)와 같은 활성산소의 생성이 증가하게 되며 반대로 세포 내 내인성 항산화 효소들의 발현은 감소하게 된다. 과산화수소는 이후 철 및 구리와 같은 전이금속과 반응하여 펜톤반응(Fenton reaction)을 통해 매우 반응성이 강한 hydroxyl radical을 형성하게 된다. 이러한 이론적 배경을 바탕으로 자외선 B로 유도된 섬유아세포 독성에 실제로 활성산소종이 관여하는지 객관화하기 위하여 세포 내부에 축적된 활성산소종의 양을 DCA-DA 시약을 사용하여 측정하였다. DCF-DA는 세포 밖에서는 형광을 띠고 있지 않지만, 친유성이 매우 높아 세포 내로 쉽게 침투되며, 이후 esterase 또는 산화적 가수분해를 받아 DCFH를 형성하여 세포 내에 축적되게 된다. DCFH는 세포 내 생성된 과산화물(peroxide)와 반응하여 형광 물질인 DCF를 형성하므로 형광측정기(fluorometer)로 쉽게 관찰이 가능하다. HS68 섬유아세포에 자외선 B를 3 h 동안 처리한 결과 세포 내 강한 형광을 나타내는 세포 수가 증가되어 형광강도가 강해진 것을 확인하였다. 이는 세포 내 활성산소종이 40 % 이상 증가된 것으로 평가되며, 이는 해양 에탄올 열수 추출물

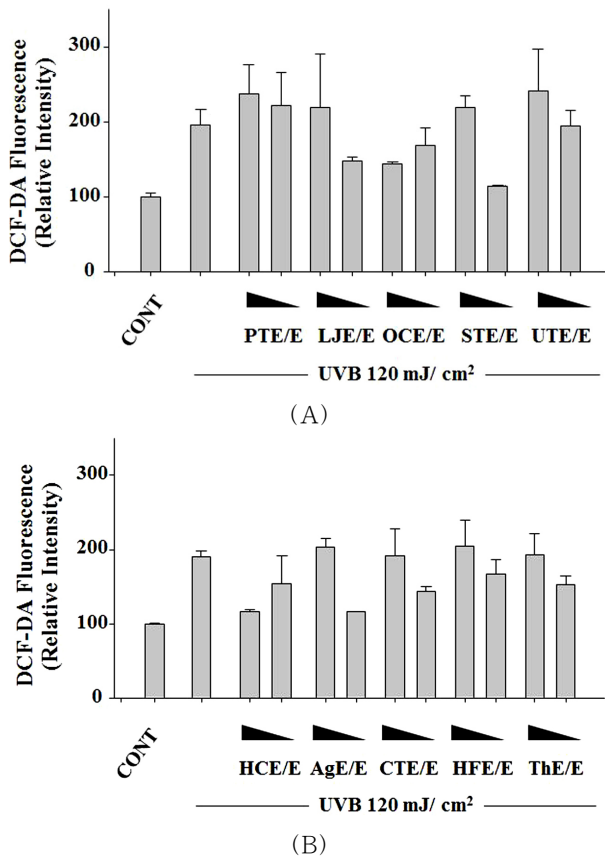


Figure 4. Inhibitory effect of marine natural extracts on the UVB-induced intracellular accumulation of ROS. HS68 cells were exposed to UVB (120 mJ) and treated with various concentration (0, 10, 30, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) of marine natural products for additional 3 h. Intracellular ROS levels were monitored and calculated by DCF fluorescence as described in the materials and methods. Values are represented as mean \pm S. D. (n = 3).

을 처리함으로써 정상 수준으로 감소되었다.

3.3. 해양 추출물의 항노화 효능 기전

피부의 대표적인 탄력 섬유인 콜라겐(collagen)은 엘라스틴(elastin)과 함께 망상으로 존재하며 진피를 지지하는 기능을 담당하며 1500개 정도의 아미노산으로 구성된 독특한 삼중나선 구조를 가지고 있다[12]. 지금까지 19가지 아형이 알려져 있으며, 특히 진피 중에는 collagen type I, II, IV, V의 형태가 가장 많이 존재한다. 이러한 콜라겐은 섬유아세포에 의해 생성되며, 엘라스틴, glycosaminoglycan, 당단백 등과 함께 세포외 기질(extracellular matrix, ECM)의 대부분을 구성하게 된다

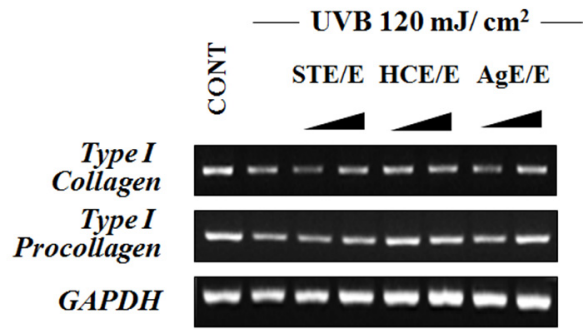


Figure 5. Effect of marine natural extracts on the mRNA level of type I collagen and type I procollagen in HS68 human skin fibroblasts after UVB irradiation.

[13]. 피부 노화의 특성으로는 피부의 탄력성 감소, 주름, 기미 등을 들 수 있으며, 이들은 과도하게 생성된 활성산소종으로 인하여 콜라겐과 엘라스틴 등의 탄력섬유에 지질과산화이 일어나 비정상적인 교차결합 및 사슬절단으로 발생하게 된다[14]. 특히, 반복적인 자외선 노출로 피부의 matrix metalloproteinases (MMPs)가 증가하게 되면, 이는 피부의 콜라겐을 분해하여 피부 주름 생성을 촉진하게 된다. 즉, 피부의 주름은 콜라겐의 합성과 분해의 불균형에 기인하며 특히 광노화된 피부의 경우 콜라겐 합성이 감소하고 분해효소의 활성이 증가되어 있는 특성이 나타난다. 본 연구에서 HS68 세포에 자외선 B를 노출시킨 경우 type I collagen 및 type I procollagen의 mRNA 합성이 현저히 감소되었으나, 해양 에탄올 추출물을 처리하였을 때 특히 석결명과 우뭇가사리의 경우 type I collagen이 자외선 단독 처리군보다 증가하였다. Type I procollagen 또한 석결명과 우뭇가사리를 처리한 군에서 정상군 수준으로 회복되었으며, 모자반 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리군에서도 긍정적인 효능은 관찰할 수 있었다(Figure 5). 이는 해양 추출물이 피부 진피층에 다량 존재하는 콜라겐이 자외선 반응으로 인한 과산화를 억제하는데 효과적으로 활용될 수 있음을 시사한다.

4. 결 론

자외선 B는 피부의 산화적 스트레스를 유발하여 피부 세포와 조직을 손상시키고 염증반응을 증가시킨다. 피부 내부에 활성산소종이 증가하게 되면 진피층 내의 콜라겐과 엘라스틴의 안정성이 저하되어 표면적 노화현상을 일으킨다. 최근 광노화에 대한 우려로 자외선으로부터 피부를 보호할 수 있는 제품의 사용이 증가하고 있으나 소

비자들은 합성 화장품 성분에 대한 피부 자극을 우려하여 거부반응을 보이는 경향이 있으며 자연적으로 천연에서 유래한 기능성 소재를 발굴하기 위한 연구가 활발하다. 그러므로 본 연구에서는 다양한 해양소재를 선택하여 자외선으로 인한 세포독성 및 산화적 사멸 억제 효능, 세포 내 항노화 효능을 비교하는 생화학적 실험을 통해 천연 항노화 화장품 소재를 발굴하고자 하였다. 우선 인간섬유아세포인 HS68세포를 자외선 B (120 mJ/cm^2)에 노출시킨 결과 세포 내 활성산소종이 40 % 이상 증가하였으나 해양 소재 에탄올 추출물을 처리한 경우 미역, 김, 모자반 순으로 현저히 억제되었으며 이들 물질은 특히 대표적인 피부 내 진피층의 콜라겐 합성과 관련되는 type I collagen과 type I procollagen을 높은 수준으로 발현하였다. 즉 이상의 결과는 해양 소재 추출물이 다양한 항산화 및 항노화 작용을 나타냄으로써 특히 산화적 스트레스가 관여되는 피부손상 및 광노화를 보호하는 독성이 낮은 기능성 화장품 천연소재로 응용될 수 있음을 시사한다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 수산실용화기술개발 사업의 연구비지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고 문헌

1. D. Roosterman, T. G., S. W. Schneider, N. W. Bunnett, and M. Steinhoff, Neuronal Control of Skin Function : The Skin as a Neuroimmunoendocrine Organ, *Physiol. Rev.*, **86**, 1309 (2006).
2. V. S. Sylvie and F. Bonte, Skin hydration : A review on its molecular mechanisms, *J. Cosmetic Dermatol.*, **6**(2), 75 (2007).
3. K. Chiba, K. Kawakami, T. Sone, and M. Onoue, Characteristics of skin wrinkling and dermal changes induced by repeated application of squalene monohydroperoxide to hairless mouse skin, *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.*, **16**(4), 242 (2003).
4. G. M. Halliday, Inflammation, gene mutation and photoimmunosuppression in response to UVR induced oxidative damage contributes to photocarcinogenesis, *Mutation Research*, **571**(1), 107 (2005).
5. R. N. Matzen, Preventive medicine: definition and application. In : R. S. Lang and D. D. Hensrud, Editors, *Clinical preventive medicine*, 3 (2004).
6. P. H. Gies, C. R. Roy, S. Toomey, and A. McLennan, Protection against solar ultraviolet radiation, *Mutation Research*, **422**, 15 (1998).
7. S. J. Dobbinson, M. A. Wakefield, K. M. Jansen, and N. L. *et al.*, Weekend sun protection and sunburn in australia : Trends (1987 - 2002) and association with sunsmart television advertising, *Am. J. Prev. Med.*, **34**(2), 94 (2008).
8. Z. Fazekas, D. Gao, R. N. Saladi, Y. Lu, M. Leibold, and H. Wei, Protective effects of lycopene against ultraviolet B-induced photodamage, *Nutrition and Cancer*, **47**(2), 181 (2003).
9. S. W. Lim, H. C. Ryoo, and S. H. Lee, Understanding of skin aging and its prevention and care, *JSBR*, **4**(1), 71 (2002).
10. Y. S. Oh, I. K. Lee, and S. M. Boo, An annotated account of korean economic seaweeds for food, medical and industrial uses. *Kor. J. Phycol.*, **5**, 57 (1990).
11. D. Kulms and T. Schwarz, Molecular mechanisms of UV-induced apoptosis. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.*, **16**(5), 195 (2000).
12. J. Uitto, D. J. Santa Cruz, and A. Z. Eisen, Connective tissue of the skin : Clinical, genetic, and histopathologic classification of hamartomas of the collagen, elastin, and proteoglycan type, *J. Am. Acad. Dermatol.*, **3**(5), 441 (1980).
13. P. K. Mays, J. E. Bishop, and G. J. Laurent, Age-related changes in the proportion of types I and III collagen. *Mechanisms of Ageing and Development*, **45**(3), 203 (1988).
14. G. J. Fisher, S. Kang, J. Varani, Z. Bata-Csorgo, Y. Wan, S. Datta, and J. J. Voorhees, Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. *Arch. Dermatol.*, **138**(11), 1462 (2002).