

마 에탄올추출물의 피부 collagen 합성 촉진 및 MMPs 활성 억제효과

김대성 · 전병국 · 임난영¹ · 문연자^{2,4} · 이영은³ · 우원홍^{2,5*}

원광대학교 한의학전문대학원 한약자원개발학과, 1: 원광대학교 뷰티디자인학과, 2: 한의과대학 해부학교실,
3: 생활과학대학 식품영양학과, 4: 환경과학연구소, 5: 한국전통의학연구소

Ethanol Extract of *Dioscorea batatas* Stimulates Procollagen Production and Reduces UVB-induced MMPs Activity in Skin

Dae Sung Kim, Byoung Kook Jeon, Nan Young Lim¹, Yeun Ja Mun^{2,4}, Young Eun Lee³, Won Hong Woo^{2,5*}

Department of Herbal Resources, Professional Graduate School of Korean Medicine,
1: Department of Beauty Design, College of Environmental Resources, 2: Department of Anatomy, College of Korean Medicine,
3: Department of Food and Nutrition, College of Environmental Resources, 4: Institute of Environmental Science,
5: Research Center of Traditional Korean Medicine, Wonkwang University

Ultraviolet (UV) B irradiation induces the production of matrix metalloproteinases (MMPs), which are responsible for the degradation or synthesis inhibition of collagenous extracellular matrix in connective tissues, causing skin photoaging. In this study, we examined the inhibitory effect of MMP-1 expression of yam extract in tumor necrosis factor-alpha (TNF- α)-stimulated human dermal fibroblast neonatal (HDFn) cell and preventive effect of UVB-induced damage in hairless mice skin. The synthesis of procollagen and the release of MMP-1 in HDFn cells were measured by EIA kit and MMP-1 assay kit, respectively. UVB radiation was applied to the backs of the mice three times a week for 8 weeks. Mice were randomly divided into three groups, and were topical application with the *Dioscorea batatas* (DB, 6%) or vehicle. Reduction of TNF- α -induced procollagen synthesis was increased by DB (50 ug/ml), which was higher than positive control group (TGF- β). Also, pre-treatment of HDFn cells with DB inhibited TNF- α - induced release of MMP-1. In vivo study, we found that preventive effect of DB against UV-induced epidermal thickness. DB suppressed the expression of MMP-3 and MMP-13 induced by UVB irradiation. Our results show that DB have preventive effect of UV-induced skin damage in hairless mice.

Key words : MMPs, *Dioscorea batatas*, procollagen, UV, skin

서 론

피부노화는 연령 증가, 스트레스 등의 원인에 의한 내인성 노화와 자외선(ultraviolet, UV), 흡연 등과 같은 외부 환경에 의한 외인성 노화로 나눌 수 있다^{1,2)}. 내인성 노화와 외인성 노화는 collagen, elastin, proteoglycan, fibronectin 등과 같은 세포외기질(extracellular matrix)의 구조적인 변화로 나타나는데 노화로 인한 섬유아세포의 작용 및 그 수가 감소하여 탄력섬유(elastic fiber)의 변성과 교원질(collagen) 양의 감소되고 주름을 야기하

게 된다^{3,4)}.

피부는 표피, 진피, 피하조직으로 구성되어 있으며 collagen 은 진피층의 80-90%를 차지하고 있는 주요 구조 단백질로 type-I collagen 이 대부분을 차지하며 type-II collagen, fibronectin 등으로 구성되어 있다. 또한 collagen은 섬유아세포의 작용에 의해 합성되며 자외선으로부터 피부 손상을 막아주고 수분 균형을 유지하여 주름 예방 및 탄력적인 피부를 유지하는데 필수적인 요소이기 때문에 collagen의 감소는 피부노화 및 주름생성과 매우 밀접한 관계를 가지고 있다^{5,6)}.

외부환경 요인 중 피부에 가장 많은 영향을 미치는 것은 자외선(ultraviolet light, UV)이며, 대기 중의 자외선은 파장에 따라 UVA(315~400 nm), UVB(280~315 nm)로 나눌 수 있다. UVA는

* 교신저자 : 우원홍, 익산시 신용동 원광대학교 한의과대학 해부학교실

· E-mail : whwoo@wku.ac.kr, · Tel : 063-850-6845

· 접수 : 2012/11/06 · 수정 : 2013/02/08 · 채택 : 2013/02/28

표피 내에서의 흡수가 진피보다 상대적으로 적고 UVB보다 더 깊숙이 침투하여 진피에 영향을 미치는 반면 UVB는 표피에 많은 변화를 일으킨다. 피부가 자외선에 과도하게 노출되면 화상, 색소침착, 탄력손실, 주름생성 및 matrix metalloproteinases (MMPs)의 발현을 유도하여 광노화를 촉진 시키며, 심한 경우 피부암을 비롯한 여러 질환을 일으키게 된다^{7,8)}. MMPs는 세포외기질을 분해하는 효소로 자외선에 의해 활성화 된 AP-1(activating protein-1)에 의해 유도되며, 인체 진피 섬유아세포(human dermal fibroblast, HDFn)와 정상 표피(normal human epidermis)에서 자외선 조사 후 MMP-1, MMP-3의 발현이 증가하였다. MMPs 중 특히, MMP-1이 광노화로 인한 세포외기질 분해에 가장 중요한 역할을 한다는 것은 이미 잘 알려져 있다⁹⁾. 따라서 피부 주름을 예방하기 위해서는 세포외기질 분해효소인 MMPs의 작용을 억제시키고 collagen 합성을 증가시키는 것이 필요하다.

마는 백합목 마과(dioscoreacea)의 다년생 덩굴 식물로 국내에서는 둥근마(*D. opposita* Thunb.) 또는 장마(*D. batatas*)로 분류되는 종류가 주로 재배되며, 익산지역에서는 '서동마'인 마(*Dioscorea aimadoimo*)를 주로 재배하고 있다^{10,11)}. 한방에서는 산약이라 하고 맛은 달고 성질은 평하며, 비장(脾臟)이 허약하여 나는 설사(泄瀉), 이질(痢疾), 노점(癆漸)으로 인한 해수(咳嗽), 유정(遺精), 대하증(帶下症), 소변빈삭(小便頻數)의 치료에 사용되고 민간에서는 자양강장 및 피부미용에 이용되고 있다. 마는 musin을 비롯한 polyphenol, saponin, tannin, diosgenin, allantoin, uronic acid, chellidonic acid, sitosterol, arginine, yonogenin 등의 생리활성 물질을 포함하고 있다¹²⁻¹⁶⁾. Polyphenol, saponin, tannin 등이 마에 다량 함유되어 있어 항노화 및 보습효과가 있을 것으로 사료되어 본 연구에서 마 에탄올추출물이 collagenase 활성과 human dermal fibroblast에서 MMP-1 활성 및 procollagen 합성에 미치는 영향을 측정하였다. 또한 광노화 모델로 알려진 hairless mouse에서 UVB에 의해 유도되는 MMPs의 발현에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 시료 추출

마 시료는 금마농협(익산시)에서 마(*Dioscorea batatas*)분말을 구입하여 사용하였다. 마 분말 400 g에 에탄올 4,000 ml를 넣고 실온에서 7일간 추출한 후 여과지에 여과시킨 다음 감압농축하고 동결건조 시켜 분말 형태의 시료 12 g(수득률 3%)을 얻었다.

2. Collagenase 활성

Collagenase 활성 억제력 평가 실험은 EnzCheck Gelatinase/Collagenase assay kit (Invitrogen, USA)를, substrate로는 DQTM gelatins from pig skin, fluorescein conjugate를 이용하여 측정하였다. 96-well plate에 reaction buffer 150 μ l, 시료 20 μ l, collagenase (10 u/ml) 20 μ l, gelatin (100 μ g/ml) 10 μ l를 가하여 잘 섞어준 후 37°C 암실에서 1시간 동안 반응 시켰다. 실험결과는 fluorescence micro plate reader (Bio-Tek, USA)를 사

용해 495/515 nm에서 측정하였다.

3. 세포배양

세포는 HDFn 세포를 한국 세포주 은행으로부터 구입하여 사용하였다. 구입한 세포를 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) 배지에 10% fetal bovine serum(FBS), penicillin/streptomycin (100 IU/50 g/ml)을 첨가하여 5% CO₂, 37°C 조건하에서 배양하였다.

4. 세포 생존율 측정

세포생존율 측정은 Mosmann의 방법¹⁷⁾에 의하여 실시하였다. 24-well 배양 용기에 HDFn 세포를 2 \times 10⁴ 개씩 분주하고 24시간 배양 후 마 에탄올추출물을 여러 농도로 처리한 다음 37°C, 5% CO₂ 하에서 24시간 배양하였다. 배양 후 0.05 mg/ml MTT 용액을 넣어 3시간 배양한 다음 상층액을 제거하고, 형성된 formazen을 DMSO(1 ml)로 녹여서 ELISA reader를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

5. MMP-1 활성

6-well plate에 HDFn 세포를 2 \times 10⁶ 개씩 분주하고 마 시료를 25, 50 μ g/ml 농도로 처리한 후 37°C, 5% CO₂ 하에서 24시간 배양하였다. MMP-1 활성을 증가시키기 위해 TNF- α 를 10 ng/ml의 농도로 첨가하였다. 배양 후 세포의 배양액을 수거하여 실험에 사용하였다. 측정은 MMP-1 Biotrack activity Assay Kit (Amersham Bioscience)을 이용하여 흡광도를 측정하였다.

6. Procollagen 합성

6-well plate에 HDFn 세포를 2 \times 10⁶ 개씩 분주하고 마 에탄올추출물을 25, 50 μ g/ml 농도로 처리한 후 37°C, 5% CO₂ 하에서 24시간 배양하였다. 양성대조군으로 TGF- β 를 10 ng/ml, 음성대조군으로 TNF- α 를 10 ng/ml의 농도로 첨가하였다. 배양 후 세포의 배양액을 수거하여 실험에 사용하였다. 배양액 내 콜라겐 생합성 정도는 Procollagen type-I C peptide (PIP) EIA kit (Takara)를 사용하여 측정하였다.

7. 실험동물

동물실험은 원광대학교 동물실험 윤리위원회의 승인을 얻어 시행하였으며, 동물관리 규정을 준수하였다. 체중 20 \pm g(6주령)의 암컷 무모쥐(SKH-1 hairless mice)를 오리엔트사로부터 구입하여, 항온항습(22 \pm °C, 50 \pm 5% RH)하에서 12시간 싸이클(09:00-21:00)로 명암이 자동 조절되는 동물사육실에서 1주간 적응시켰다. 사료는 마우스 전용사료를 자유 급식하였으며 음수는 2차 D.W를 자유 급이 하였다.

8. 도포액의 조제

도포액의 기본 로션은 에탄올, 프로필렌글리콜, 증류수를 각각 3:5:2의 비율로 혼합하여 제조하였다. 대조군의 도포액은 기본 로션으로 실험군의 도포액은 마 시료를 6%의 농도로 기본 로션

에 녹여 제조하였다.

9. 시료의 도포 및 UV 조사

주 6일 일정한 시간에 도포액 50 μ l를 무모생쥐의 등 부분에 도포하고 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, 2주째는 90 mJ/cm², 이 후 8주까지 120 mJ/cm²로 조사하였다.

10. H&E 및 면역조직화학 염색

조직준비를 위해 동물을 희생시킨 후 등쪽 피부를 절개하여 filter paper에 부착한 후 10% 중성 포르말린에 고정시켰다. 일반적인 조직처리 과정을 거쳐 파라핀 포매하고, 6 μ m 절편을 잘라 Hematoxylin & Eosin(H&E) 염색을 실시하여 관찰하였다. 면역조직화학은 Histostain[®]-SP Broad Spectrum (AEC) kit와 1차 항체 goat polyclonal IgG MMP-3, rabbit polyclonal IgG MMP-13은 Santa Cruz(CA, USA)사 제품을 사용하였다. 파라핀 포매된 조직을 6 μ m 두께로 잘라 탈파라핀 과정을 거쳐 3% H₂O₂로 내인성 과산화효소를 억제 하였다. 이 후 serum blocking solution으로 blocking 시킨 후 1차 항체를 1:100으로 희석하여 4°C overnight 시켰다. PBS로 3회 세척 후 streptavidin-peroxidase conjugate 2차 항체를 30분간 반응시켰다. PBS 3회 세척 후 3-amino-9-ethylcarbazole(AEC)로 발색하여 현미경으로 관찰 하였다.

12. 통계처리

실험 결과는 student's t-test를 이용하여 p-value를 구하였고 0.05 이하일 경우 *를, 0.01 이하일 경우 **를 표시하여 유의성을 나타내었다.

결과 및 고찰

1. Collagenase 활성 억제

세포외기질(extracellular matrix, ECM)의 주요 구성 성분인 collagen은 섬유아세포(fibroblast)에서 생성되는 주요 기질 단백질로 진피층의 약 90%를 차지하고 있다¹⁸⁾. Collagen은 피부에서 탄력과 결합에 중요한 역할을 하고 있는데 트립신과 같은 단백질 분해효소의 작용을 받지 않고 collagenase에 의해 분해 된다^{19,20)}. 따라서 collagenase는 세포외기질 단백질을 분해하는 효소로 피부의 주름생성을 촉진시키는 요인이 된다. 본 실험에서 마 시료가 collagenase 활성에 미치는 영향을 측정할 결과, 5, 10, 15, 20, 25 μ g/ml 농도에서 각각 8%, 18%, 25%, 30%, 33%로 collagenase의 활성을 억제하였으며, 억제효과는 농도 의존적으로 증가하였다(Fig. 1).

2. 인체 진피 섬유아세포에서 MMP-1 활성 억제 및 procollagen 합성 촉진

피부 노화의 대표적인 현상인 주름은 각질형성세포(keratinocyte)와 섬유아세포(dermal fibroblast)에 의해 분비된 MMPs에 의해 야기된다. MMPs는 촉매 부위에 금속을 포함하는 효소로서, 1962년 Gross와 Lapiere²¹⁾가 사이질 아교질분해효소(interstitial collagenase, MMP-1, collagenase-1)를 처음으로 밝혀낸 이후, 현재까지 25개 이상의 MMPs가 밝혀졌고, 자외선, 산화스트레스, TNF- α 등과 같은 다양한 자극에 의해 활성이 나타나게 된다²²⁾. MMPs family 중 MMP-1은 collagen에 특이적으로 작용하는 단백질 분해 효소로서 collagen type-I 과 III을 분해한다²³⁾. 인체 진피 섬유아세포와 표피에서 자외선 조사 후 MMP-1, MMP-3의 발현이 유도되었고, MMPs 중 특히, MMP-1이 광노화로 인한 세포외기질 분해에 가장 중요한 역할을 한다⁹⁾. 본 실험에서는 마 시료가 인체 진피 섬유아세포의 MMP-1 활성에 미치는 영향을 조사하고자 시료를 25, 50 μ g/ml 농도로 처리하고 24 시간 후 MMP-1의 활성을 측정하였으며, MMP-1의 활성은 TNF- α 로 유도하였다. 실험 결과, MMP-1 활성이 대조군은 4.51 ng/ml, TNF- α 처리군은 14.56 ng/ml로 TNF- α 에 의해 MMP-1 활성이 증가하였다. 한편 시료와 TNF- α 를 병용 처리한 경우 MMP-1의 활성은 25, 50 μ g/ml 농도에서 각각 9.26, 5.27 ng/ml였고, 시료에 의해 TNF- α 에 의해 증가되었던 MMP-1 활성이 각각 36%, 64%로 감소되었다(Fig. 2). 자외선 등의 유해요인은 활성산소종을 발생시켜 다수의 신호전달체계를 활성화시킴으로써 AP-1과 nuclear factor κ B(NF- κ B)를 활성화시켜 염증반응과 함께 교원질을 분해하는 MMPs 효소들의 작용을 증가시키는 것으로 알려졌다²⁴⁾. 인체 진피 섬유아세포에서 UV에 의해 유도된 MMP-1의 발현을 감소시키는 물질로 EPA가 알려져 있으며²⁵⁾, 김 등은 Ginsenoside-Rb1과 -Rg1이 TNF- α 로 유도된 MMP-1의 활성을 억제한 것으로 보고하였다²⁶⁾.

Collagen(type I, II, III, IV and V)들은 세포내에서 procollagen이라는 전구물질로 합성된 후 세포외로 분비되어 collagen 섬유로 중합된다. Procollagen은 아미노 말단과 카르복시 말단에 프로펩티드라는 펩티드염기서열을 포함하고, 프로펩티드는 endopeptidase에 의해 분리된다^{27,28)}. 본 실험에서 마 시료가 인체 진피 섬유아세포의 procollagen 합성에 미치는 영향을 조사하였다. 마 시료를 세포에 25, 50 μ g/ml 농도로 처리하고 24 시간 배양 후 procollagen 양을 조사한 결과는 Fig. 3과 같다. 실험 결과, TNF- α 군의 경우 procollagen 양은 대조군에 비해 약 22% 감소하였으며, procollagen 생성을 촉진시키는 것으로 알려진 TGF- β ²⁹⁾군의 경우 대조군에 비해 34% 증가하였다. 마 시료를 25, 50 μ g/ml 와 TNF- α 를 병용 처리 하였을 경우 procollagen 양은 25 μ g/ml의 농도에서 대조군과 거의 같은 수준으로 회복되었다. 50 μ g/ml 농도에서는 대조군에 비해 procollagen 합성이 40% 증가되었고, 양성대조군인 TGF- β 처리군 보다 6% 높게 증가되었다(Fig. 3).

이상의 결과 인체 진피 섬유아세포에서 TNF- α 에 의해 촉진된 MMP-1의 활성을 마 시료는 효과적으로 억제시켰고, 감소된 procollagen 합성은 촉진시켰음을 확인하였다. 한편 마 시료의 세포독성을 측정할 결과 200 μ g/ml 농도까지 인체 섬유아세포

의 증식에 영향을 미치지 않았다.

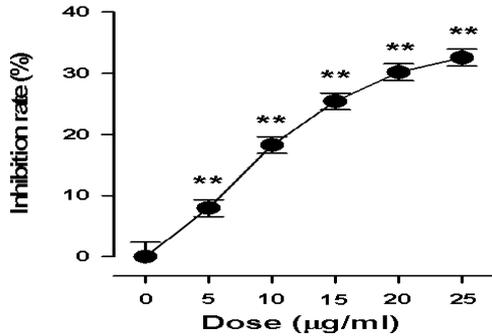


Fig. 1. Effect of DB on collagenase inhibition rate. Result was expressed as mean values ± S.D. **p<0.01 compared with untreated control.

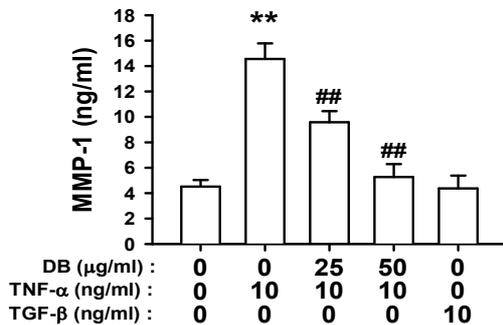


Fig. 2. Inhibitory effect of MMP-1 secretion by DB in TNF-α-treated HDFn cells. Cells were stimulated with TNF-α (10 ng/ml) and the indicated concentrations of DB for 24 hr. Level of MMP-1 in culture media was measured using a commercially available ELISA kit. Result was expressed as mean values ± S.D. ##p<0.01 compared with untreated control and **p<0.01 compared with TNF-α treated control.

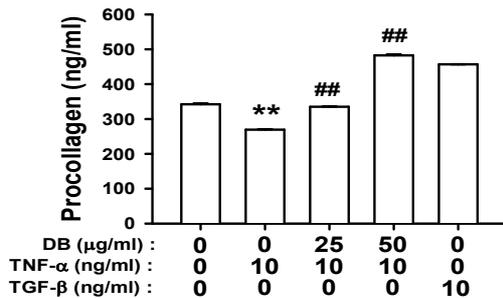


Fig. 3. Up-regulation of procollagen synthesis by DB in TNF-α-treated cells. Cell culture fluid was collected and assayed for type 1 procollagen by enzyme-linked immunosorbent assay. Result was expressed as mean values ± S.D. ##p<0.01 compared with untreated control and **p<0.01 compared with TNF-α treated control.

3. Hairless mouse에서 피부 조직 관찰 및 MMP-3, MMP-13 발현 억제

장기간 UV 노출 시 일반적으로 나타나는 피부 조직의 병리학적인 특징은 표피 두께가 2-3배 증가하며, 표피층에서는 유극세포의 증가, 각질세포의 다형성 등이 관찰되고, 엘라스틴을 포함한 물질들이 표피와 진피 연결층 위에 침착되며 진피층에서는 collagen과 elastin의 섬유 구조가 변형되고 탄력섬유의 증가로

인한 elastosis가 관찰된다. 정상 피부 조직인 경우 피하지방층이 널리 분포하지만 UV 노출 시 교원섬유의 분포가 다양하게 관찰되는 특징이 있다^{30,31}. 피부 조직의 병리학적인 관찰 결과, 대조군과 UV군을 비교해 보았을 때 UV 조사에 의해 약 3배 정도의 표피 두께가 증가한 것을 확인 할 수 있었으며, 마 시료군은 UV군에 비해 표피 두께가 약 절반 가량 줄어든 것을 확인 할 수 있었다(Fig. 4). 지속적인 자외선에 노출 시 각질층은 표피를 자외선으로부터 보호하기 위하여 두꺼워지는 현상이 나타나게 되는데 이는 피부가 자외선으로부터 손상을 받았다는 것을 의미하며 마 시료 처리 시 표피층의 두께가 줄어든 것은 자외선으로부터 피부 손상을 감소시키는 예방효과가 있음을 의미한다.

MMP family 중 MMP-3는 stromelysin 1 이라고도 하며 기저막의 type IV collagen을 특이적으로 분해하고, pro-MMP-1을 활성화시킨다. 또한 MMP-9은 gelatinase B로 collagenase에 의해 분해된 산물을 더 작게 가수분해한다. MMP-13(collagenase-3)은 type-II collagen에 매우 특이성이 있다³²⁻³⁴. 설치류에서는 MMP-13이 MMP-1의 기능을 하고 있다³⁵. 본 실험의 인체 진피 섬유아세포 배양에서 마 시료는 MMP-1 활성을 억제하였고 procollagen의 합성을 촉진하였다. 따라서 Hairless mice를 이용한 in vivo에서 마 시료가 MMP-3과 MMP-13의 활성을 억제하는지 조사하였다. 실험결과 UVB군은 대조군에 비해 MMP-3의 발현이 6.7배 증가되었으며 마 시료의 전처리군은 UVB군에 비해 MMP-3의 발현이 약 2/3 감소되었다. MMP-13의 경우 UVB에 의해 약 4.7배 증가하였고, 마 시료 전처리군은 UVB군에 비하여 약 1/3 가량 MMP-13의 발현이 감소된 것을 확인할 수 있었다(Fig. 5). 이상의 실험결과 마 시료는 Hairless mice에서 UVB에 의한 피부 표피층의 손상을 억제하고, MMP-3, 13 발현을 억제한 것을 알 수 있었으며 이는 마 에탄올추출물이 자외선에 의한 피부 손상을 예방하는 효과가 있을 것으로 사료된다.

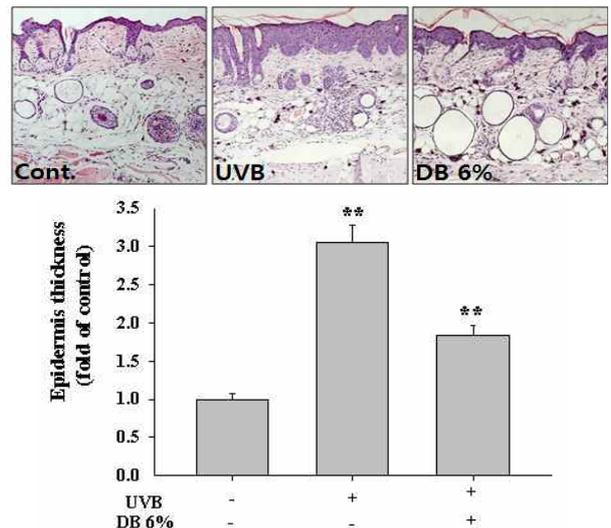


Fig. 4. Effect of topical application of DB on UVB-induced epidermal hypertrophy in vivo. Histological sections of mouse dorsal skins were stained with haematoxylin and eosin staining. The distance from the basal layer to the stratum granulosum/stratum corneum junction was measured for epidermal thickness of dorsal skins. Results are expressed as fold change. Values are mean±SEM. Magnification, ×200. **p<0.01 vs control.

참고문헌

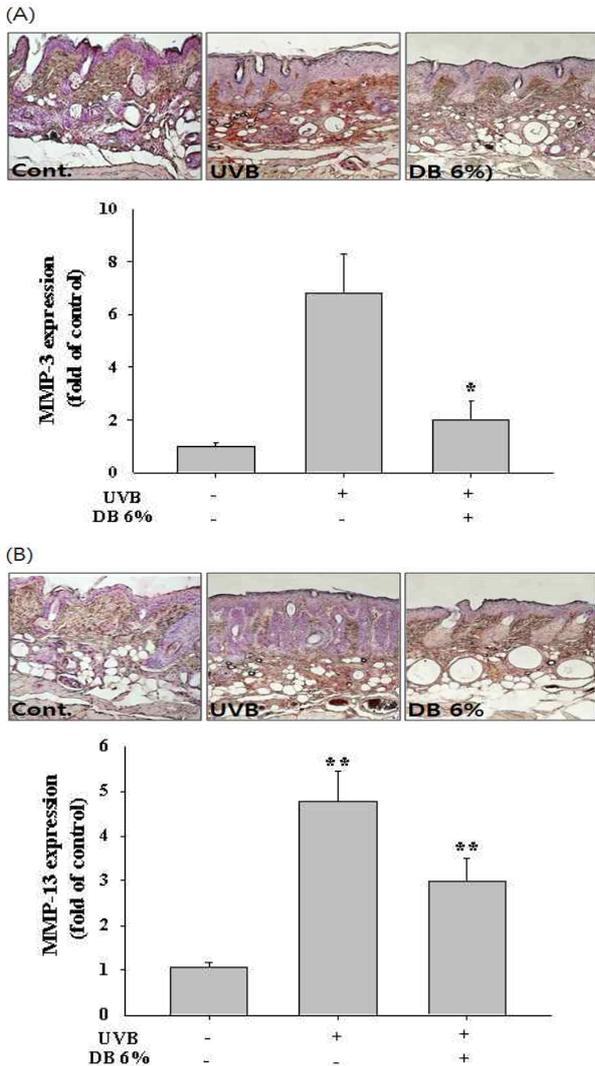


Fig. 5. Effect of topical application of DB on UVB-induced expression of MMP-3, -13 in vivo. Immunohistochemical staining of MMP-3 (A) and MMP-13 (B) in hairless mice skin from untreated control, UVB, UVB+DB(6%). Results are expressed as fold change. Values are mean±SEM. Magnification, ×200. **p<0.01 vs control.

결론

본 실험은 마 에탄올추출물이 피부 광노화에 의한 주름 생성에 미치는 영향을 조사하였다. 마는 collagenase 활성을 억제하였고, 사람의 진피 섬유아세포(HDFn)에서 MMP-1의 활성 억제 및 procollagen의 합성을 증가시켰다. 또한 hairless mice에 마를 국소 도포한 결과, UVB에 의해 비후된 표피 두께가 감소되었고, MMP-3, -13의 활성이 현저히 감소되었다. 이상의 결과 마는 피부의 collagen 생성을 촉진하고 MMPs의 활성을 억제함으로써 UVB로 인한 주름생성에 예방 효과가 있을 것으로 사료 된다.

감사의 글

이 논문은 2011년도 원광대학교 교비 지원에 의하여 수행되었음.

1. Cho, S., Kim, H.H., Lee, M.J., Lee, S., Park, C.S., Nam, S.J., Han, J.J., Kim, J.W., Chung, J.H. Phosphatidylserine prevents UV-induced decrease of type I procollagen and increase of MMP-1 in dermal fibroblasts and human skin in vivo. *J Lipid Res* 49(6):1235-1245, 2008.
2. Chung, J.H., Eun, H.C. Angiogenesis in skin aging and photoaging. *J Dermatol* 34(9):593-600, 2007.
3. Durai, P.C., Thappa, D.M., Kumari, R., Malathi, M. Aging in elderly: chronological versus photoaging. *Indian J Dermatol* 57(5):343-352, 2012.
4. Fisher, G.J., Kang, S., Varani, J., Bata-Csorgo, Z., Wan, Y., Datta, S., Voorhees, J.J. Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. *Arch Dermatol* 138(11):1462-1470, 2002.
5. 김나미, 구분석, 이성계, 황의일, 소승호, 도재호. 홍삼성분이 섬유아세포의 콜라겐 생합성과 MMP-1 활성에 미치는 영향. *고려인삼학회지* 31(2):86-92, 2007.
6. Yang, B., Ji, C., Kang, J., Chen, W., Bi, Z., Wan, Y. Trans-Zeatin inhibits UVB-induced matrix metalloproteinase-1 expression via MAP kinase signaling in human skin fibroblasts. *Int J Mol Med* 23(4):555-560, 2009.
7. Oh, J.H., Kim, A., Park, J.M., Kim, S.H., Chung, A.S. Ultraviolet B-induced matrix metalloproteinase-1 and -3 secretion are mediated via PTEN/Akt pathway in human dermal fibroblasts. *J Cell Physiol* 209(3):775-785, 2006.
8. Soter, N.A. Acute effects of ultraviolet radiation on the skin. *Semin Dermatol* 9(1):11-15, 1990.
9. Lee, Y.R., Noh, E.M., Jeong, E.Y., Yun, S.K., Jeong, Y.J., Kim, J.H., Kwon, K.B., Kim, B.S., Lee, S.H., Park, C.S., Kim, J.S. Cordycepin inhibits UVB-induced matrix metalloproteinase expression by suppressing the NF-kappaB pathway in human dermal fibroblasts. *Exp Mol Med* 31;41(8):548-554, 2009.
10. 정신교, 정용열, 정우식. 단마(Dioscorea aimadoimo)의 열풍 건조 시 갈변 억제 방안 연구. *한국응용생명화학회지* 39(5):384-388, 1996.
11. 김명화, 임숙자. 참마 분획물이 당뇨 유발 흰쥐의 혈당 및 에너지대사물농도에 미치는 영향. *한국영양학회지* 31(7):1093-1099, 1998.
12. Kwon, C.S., Sohn, H.Y., Kim, S.H., Kim, J.H., Son, K.H., Lee, J.S., Lim, J.K., Kim, J.S. Anti-obesity effect of Dioscorea nipponica Makino with lipase-inhibitory activity in rodents. *Biosci Biotechnol Biochem* 67: 1451-1456, 2003.
13. Son, I.S., Kim, J.I., Sohn, H.Y., Son, K.H., Kim, J.S., Kwon, C.S. Antioxidative and hypolipidemic effects of diosgenin, a steroidal saponin of yam (Dioscorea spp), on

- hing-cholesterol fed rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 71: 3063-3071, 2007.
14. Kang, T.H., Choi, S.Z., Lee, T.H., Son, M.W., Kim, S.Y. Characteristics of antidiabetic effect of *Dioscorea rhizoma* (1) - Hypoglycemic effect. *Korean J Food Nutr* 21: 425-429, 2008.
 15. Kwon, E.G., Choe, E.M., Gu, S.J. Effects of mucilage from yam (*Dioscorea batatas* DECNE) on blood glucose and lipid composition in alloxan-induced diabetic mice. *Korean J Food Sci Technol* 33: 795-801, 2001.
 16. Han, Y.N., Hahn, S.H., Lee, I.R. Purification of mucilages from *Dioscorea batatas* and *D. Japonica* and their content analysis. *Korean J Pharmacogn* 21: 274-283, 1990.
 17. Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 65: 55-63, 1983.
 18. Fisher, G.J., Datta, S., Wang, Z., Li, X.Y., Quan, T., Chung, J.H., Kang, S., Voorhees, J.J. Fisher GJ, Datta S, Wang Z, Li XY, Quan T, Chung JH, Kang S, Voorhees JJ. *J Clin Invest* 106(5):663-670, 2000.
 19. Fagot, D., Asselineau, D., Bernerd, F. Matrix metalloproteinase-1 production observed after solar-stimulated radiation exposure is assumed by dermal fibroblasts but involves a paracrine activation through epidermal keratinocyte. *Photochem Photobiol* 79: 499-505, 2004.
 20. Brinckmann, J., Acil, Y., Wolff, H.H., Muller, P.K. Collagen synthesis in (sun-) aged human skin and in fibroblasts derived from sun-exposed and sin-protected body sites. *J Photochem Photobiol B* 27: 33-38, 1995.
 21. Gross, B., Lapiere, C. Collagenolytic activity in amphibian tissue a tissue culture assay. *Proc Natl Acad Sci USA* 54: 1197-1204, 1962.
 22. Steenport, M., Khan, K.M., Du, B., Barnhard, S.E., Dannenberg, A.J., Falcone, D.J. Matrix Metalloproteinase (MMP)-1 and MMP-3 Induce Macrophage MMP-9: Evidence for the Role of TNF- α and Cyclooxygenase-2. *J Immunol* 183(12):8119-8127, 2009.
 23. Kim, H.H., Lee, M.J., Lee, S.R., Kim, K.H., Cho, K.H., Eun, H.C., Chung, J.H. Augmentation of UV-induced skin wrinkling by infrared irradiation in hairless mice. *Mech Ageing Dev.* 126(11):1170-1177, 2005.
 24. Kang, S.W., Chung, J.H., Hammerberg, C., Fisher, G.J., Voorhes, J.J. Inflammatio and Extracellular Matrix Degradation Mediated by Activated ranscription Factors Nuclear Factor-kB and Activator Protein-1 in Inflammatory Acne Lesions in Vivo. *Am J Pathol* 166: 1691-1699, 2005.
 25. McCord, J.M., Fridovich, I. The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions. I, Radicals generated by the interaction of sulfite, dimethyl sulfoxide, and oxygen. *J Biol Chem.* 25: 6056-6063, 1963.
 26. Kim, N.M., Koo, B.S., Lee, S.K., Hwang, E.I., So, S.H., Do J.H. Effect of Korean red ginseng on collagen biosynthesis and MMP-I activity in human dermal fibroblast. *J Ginseng Res.* 31(2):86-92, 2007.
 27. Fisher, G.J., Wang, Z.Q., Datta, S.C., Varani, J., Kang, S., Voorhees, J.J. Pathophysiology of premature skin aging induced by ultraviolet light. *N Engl J Med* 337: 1419-1428, 1997.
 28. Kim, H.H., Cho, S., Lee, S., Kim, K.H., Cho, K.H., Eun, H.C., Chung, J.H. Photoprotective and anti-skinaging effects of eicosapentaenoic acid in human skin in vivo. *J Lipid Res* 47: 921-930, 2006.
 29. Lee, K.E., Mun, S.Y., Pyun, H.B., Kim, M.S., Hwang, J.K. Effects of Macelignan Isolated from *Myristica fragrans* (Nutmeg) on Expression of Matrix Metalloproteinase-1 and Type I Procollagen in UVB-Irradiated Human Skin Fibroblasts. *Biol Pharm Bull* 35(10):1669-1675, 2012.
 30. Jean, L.B., Aging skin. *Am J Med* 8: S99-S103, 1995.
 31. Laure, R.G., Fisher, J. UV-light-induced signal cascades and skin aging. *Ageing Res Rev.* 1: 705-720, 2002.
 32. Lee, Y.R., Noh, E.M., Han, J.H., Kim, J.M., Hwang, J.K., Hwang, B.M., Chung, E.Y., Kim, B.S., Lee, S.H., Lee, S.J., Kim, J.S. Brazilin inhibits UVB-induced MMP-1/3 expressions and secretions by suppressing the NF- κ B pathway in human dermal fibroblasts. *Eur J Pharmacol* 15:674(2-3):80-86, 2012.
 33. Oh, J.H., Kim, A., Park, J.M., Kim, S.H., Chung, A.S. Ultraviolet B-Induced Matrix Metalloproteinase-1 and -3 Secretions Are Mediated via PTEN/Akt Pathway in Human Dermal Fibroblasts. *J Cell Physiol* 209(3):775-785, 2006.
 34. Zhang, M., Zhou, Q., Liang, Q.Q., Li, C.G., Holz, J.D., Tang, D., Sheu, T.J., Li, T.F., Shi, Q., Wang, Y.J. IGF-1 regulation of type II collagen and MMP-13 expression in rat endplate chondrocytes via distinct signaling pathways. *Osteoarthritis Cartilage* 17(1):100-106, 2009.
 35. Mariani, T.J., Sandefur, S., Roby, J.D., Pierce, R.A. Collagenase-3 induction in rat lung fibroblasts requires the combined effects of tumor necrosis factor- α and 12-lipoxygenase metabolites: a model of macrophage-induced, fibroblast-driven extracellular matrix remodeling during inflammatory lung injury. *Mol Biol Cell* 9(6):1411-1424, 1998.