

거품돌산호 추출물의 멜라닌 합성 억제 효능

심중현*

세명대학교 화장품학과 피부기초과학연구소

Inhibitory Effects of *Alveopora japonica* Extract on Melanin Synthesis

Joong Hyun Shim *

Department of Cosmetic Science, Semyung University, Chungbuk, Korea

Abstract – This study was performed to elucidate the inhibitory effects of *Alveopora japonica* extract on melanin synthesis by measuring the levels of cell viability, mRNA expression, tyrosinase activity, and melanin production in the B16F10 cell line. The effects of *A. japonica* extract on tyrosinase-related protein 1 (*TYRP1*), *TYRP2*, tyrosinase (*TYR*), and microphthalmia-associated transcription factor (*MITF*) mRNA expression levels and melanin content were determined. Quantitative real-time RT-PCR show that *A. japonica* extract decrease the mRNA expression levels of *TYRP1*, *TYRP2*, *TYR*, and *MITF* in B16F10 cell line, resulting in lower levels of melanin production compared to α -MSH-treated B16F10 cells. Tyrosinase activity assays reveal that *A. japonica* extract decrease melanin production in B16F10 cells. These results demonstrate the whitening effects of *A. japonica* extract on B16F10 cells; thus, *A. japonica* extract is a potent ingredient for skin whitening. Further research is needed on the mechanism of action of *A. japonica* extract. Such research will benefit not only cosmetics, but also the health food and medical industries.

Keywords – *Alveopora japonica*, Melanin, Tyrosinase, Microphthalmia-associated transcription factor, *TYRP1*, *TYRP2*

피부색은 혈액 내 헤모글로빈, 피하조직에 존재하는 β -카로틴, 표피층에 존재하는 멜라닌형성세포(melanocyte)가 만들어 내는 멜라닌 색소(melanin) 등에 의해 결정된다. 특히 멜라닌 색소의 양과 분포에 의해 피부색이 주로 결정 된다. 피부에 존재하는 흑색 혹은 갈색 고분자 색소인 멜라닌은 머리카락의 색과 피부의 색을 결정짓는 중요한 인자로 알려져 있다.¹⁾ 멜라닌은 피부의 기저층에 존재하는 melanocyte 내부의 소기관인 melanosome에서 생성되는 단백질로, 자외선을 산란시키거나 흡수시켜 피부의 구성세포 혹은 피부조직의 손상을 억제하는 유익한 기능을 하기도 하지만, 과도한 멜라닌은 색소침착, 기미, 주근깨 등의 과색소 현상을 야기한다고 알려져 있다.^{2,3)}

자외선(ultra violet; UV)에 노출된 melanocyte의 멜라닌 생성과정(melanogenesis)에 의해 생성되는 멜라닌 색소는 피부색을 어둡게 변화시켜 UV로부터 피부를 보호하는 유익한 기능을 한다. 멜라닌 색소에는 적갈색인 피오멜라닌(pheomelanin)과 흑색인 유멜라닌(eumelanin)이 있다.^{4,5)} 멜

라닌 색소의 생성은 아미노산의 한 종류인 L-tyrosine을 기질로 하여, 주효소인 tyrosinase(TYR)와 tyrosinase related protein-1(TYRP1), TYRP2에 의해 L-DOPA(3,4-dihydroxyphenylalanine)를 거쳐 DOPAquinone으로 산화된 후 최종적으로 피오멜라닌과 유멜라닌이 생성된다.^{4,5)} TYR 효소는 멜라닌 생성에 핵심적인 효소이고, 대표적인 미백 소재인 다나무추출물, 감초추출물, 코직산, 알부틴 등은 TYR 효소의 활성을 억제한다고 보고되어 있다.^{6,7)} 특히 알부틴은 멜라닌의 원료인 L-tyrosine과 경쟁적으로 TYR 효소에 반응하여 효소를 억제하는 역할을 하며, 코직산은 TYR 효소의 활성부위(active site)에 결합하는 Cu^{2+} 를 chelating하여 멜라닌 전구체인 L-DOPA와 DOPA quinone이 만들어 지는 것을 방해한다고 알려져 있다. 알부틴과 코직산은 강력한 멜라닌 생성 억제 효능이 있다고 알려져 있지만, 피부자극 등과 같은 안전성 문제가 보고되어있기 때문에 이들 소재를 대체할 수 있는 천연유래 기능성 소재 개발 등 신규 효능 소재 발굴에 많은 연구가 진행되고 있다.^{8,9)}

거품돌산호(*Alveopora japonica*)는 저서무척추동물의 일종으로 플랑크톤이나 어류에 비해 이동성이 적어 일시적 환경변화나 연안 환경을 모니터링하는데 유용한 개체이며 연

*교신저자(E-mail): jhshim@semyung.ac.kr
(Tel): +82-43-649-1615

안생태계의 건강도를 측정하는 요소로 알려져 있다.^{10,11)} 온대 해역인 대한민국의 본토와는 달리 열대 및 아열대성 기후를 지닌 제주도 연안 및 대만, 일본, 그리고 동중국해안에 많이 서식하고 있는 종이다.^{12,13)} 거품돌산호에 대한 연구는 생태학적 연구가 대부분이며 병태생리학 및 약리학 분야의 연구는 매우 미비한 실정이다. 거품돌산호 추출물의 병태생리 및 약리학 연구로는 μ -calpain의 억제효과가 있다는 것이 유일한 연구분야이다.¹⁴⁾ 인체 내에서 Calpain의 부적절한 조절에 의해 뇌/척수 손상, 알츠하이머 및 파킨슨병, 암, 백내장 등의 질환이 유발될 수 있는데,¹⁵⁾ 거품돌산호 추출물이 이러한 calpain 효소의 기능을 억제하여 위의 질환을 억제할 수 있는 가능성이 있음이 보고된 바 있다.¹⁴⁾

하지만 거품돌산호 추출물의 멜라닌 생성 기전에 관한 연구는 전무한 실정이다. 본 연구에서는 거품돌산호 추출물의 멜라닌 생성과 관련되어 마우스 유래 흑색종 세포주인 B16F10 세포주에서의 표지인자인 *TYRP1*, *TYRP2*, *TYR*, *MITF* 등의 발현에 미치는 정도를 확인해 보고, α -melanocyte stimulating hormone(α -MSH)에 의해 유도된 멜라닌 색소의 생성이 거품돌산호 추출물에 의해 감소되는지 입증하고자 한다. 이를 통해 거품돌산호 추출물의 향후 미백 기능성 원료 및 바이오 소재로서의 가능성을 제시해 보고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 및 세포배양 - 마우스 유래 흑색종 세포주인 B16F10 cell line은 한국세포주은행(Korean Cell Line Bank, Korea)에서 분양받았으며, 배양액은 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM, Welgene, Korea)에 10%의 fetal bovine serum(FBS, Equitech-bio, USA)과 1%의 penicillin/streptomycin(Gibco, USA)을 첨가하여 37°C, 5% CO₂의 조건에서 배양하였다.¹⁶⁾ 본 실험에 사용된 거품돌산호(NP20190010)는 2009년 11월 5일에 제주특별자치도 서귀포시 인근 해역에서 채집된 시료이며, 국립해양생물자원관의 해양바이오뱅크에서 분양받아 사용하였다. 거품돌산호 추출물은 동결건조한 후 메탄올을 용매로 하여 소니케이션하여 추출하였고, DMSO:Ethanol(1:1; vol/vol)에 100 mg/mL의 농도로 용해시켜 세포실험에 사용하였다.

소재의 세포 생존율 측정 - 거품돌산호 추출물에 의한 B16F10 세포주의 생존율은 CCK-8(cell counting kit-8, EZ-Cytox, DoGen, Korea) assay를 이용하여 확인하였다. 2 × 10⁴ 개의 B16F10 세포주를 96 well plate에 접종한 후, 거품돌산호 추출물을 농도 별로 24 시간 동안 처리하였다. 세포 생존율을 측정하기 위해 CCK-8 시약을 DMEM 배지(phenol red-free, Welgene, Korea)에 1/10로 희석하여 첨가한 후 1.5 시간 동안 인큐베이터에서 반응시켰다. Spectrophotometer(EPOCH; BioTek, USA. 450 nm)를 이용하여 흡광도를 측정하였으며, B16F10 세포주를 배양하지 않고 CCK8 시약만 넣어 준 샘플을 대조군의 흡광도로 하여 세포 생존율을 산출하였다.¹⁶⁾

In vitro Mushroom tyrosinase activity 분석 - Mushroom Tyrosinase(EC 1.14.18.1, Sigma, USA)는 276 units/mL의 농도로 0.67 M PBS(pH 6.8)에 녹였다. Mushroom Tyrosinase (13.8 units/mL) 150 μ L, 1/15 M의 PBS를 넣은 후, 상온에서 10 분간 우선 반응시켰다. 추가로 L-tyrosine(Sigma, USA)을 넣고 10 분간 반응시킨 후 490 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 각각의 실험군은 독립적으로 3반복 실험하였고, 아래의 계산식을 이용하여 거품돌산호 추출물의 TYR 효소 저해율(%)을 계산하였다. 양성대조군으로는 코킵산(100 μ g/mL, Sigma, USA)를 사용하였다.

$$\text{효소 저해율(\%)} = [(A2-A1)-(B2-B1)] / (A2-A1) \times 100$$

A1: 공시료의 흡광도

A2: 공시료 반응 후의 흡광도

B1: 시료의 흡광도

B2: 시료 반응 후의 흡광도

RNA 추출 및 실시간 유전자 종합효소 연쇄반응(Real-time RT-PCR) - TRIzol Reagent(Invitrogen, USA)를 이용하여 total RNA를 추출하였다. 추출한 RNA로부터 cDNA의 합성은 Superior Script III Master Mix(Enzynomics, Korea)를 사용하였으며, B16F10 세포주의 표지인자 발현을 확인하기 위하여 Real-time RT-PCR(StepOne Plus, Applied Biosystems, USA)을 수행하였다. 본 실험에서 사용한 Taqman[®] Gene expression assay(Applied Biosystems, USA)는 Table I에 표기하였다.

Table I. Gene Name and Assay ID Number in Real-time RT-PCR Analysis

Symbol	Gene name	Assay ID
TYRP1	Tyrosinase-related protein 1	Mm00453201_m1
TYRP2	Tyrosinase-related protein 2	Mm01225584_m1
TYR	Tyrosinase	Mm00495817_m1
MITF	Microphthalmia-associated transcription factor	Mm00434954_m1
GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	Mm99999915_g1

B16F10 세포의 멜라닌 색소 생성량 측정 - 멜라닌 색소 생성량 측정은 Hosoi의 연구방법을 일부 수정하여 사용하였다.¹⁷⁾ 2×10^5 개의 B16F10 세포주를 60 mm 조직배양 접시에 접종하였다. 24 시간 동안 세포를 배양한 후 200 nM 농도의 α -melanocyte stimulating hormone(α -MSH; Sigma, USA)와 거품돌산호 추출물을 농도 별로 72 시간 동안 처리하였다. 배양액을 제거한 후 PBS(Welgene, Korea)로 3차례 수세한 후, NaOH(1N; Sigma, USA) 용액 200 μ l를 처리하여 2 시간 동안 60°C에서 멜라닌 색소를 용해시킨 후 405 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군으로 알부틴(100 μ g/mL, Sigma, USA)을 사용하였다. 멜라닌 색소의 생성 억제제는 α -MSH 처리조건에 대한 멜라닌 생성량을 퍼센트로 표시하였으며 독립적으로 3 반복 실험을 하여 수행하였다.

통계분석 - 통계처리 분석은 Student's T-test assay를 이용하였으며, 유의 수준 0.05($p < 0.05$)로 하여 검정하였다.

결과 및 고찰

거품돌산호 추출물 농도별 B16F10 세포주의 생존율 분석 - B16F10 세포주에 대한 거품돌산호 추출물의 세포독성을 확인하기 위해 CCK-8 assay를 수행하였다. 대조군은 거품돌산호 추출물을 처리하지 않았고, 거품돌산호 추출물 처리군은 1000, 100, 10, 1 μ g/mL, 100, 10, 1 ng/mL의 농도로 처리하여 세포 생존율을 측정하였다(Fig. 1). 1000 μ g/ml 이상의 농도를 처리했을 때, B16F10 세포의 생존율이 대조군 대비 유의성있게 감소함을 확인하였다(Fig. 1). 100 μ g/mL 이하의 거품돌산호 추출물을 처리하였을 때는 B16F10 세포의 생존율이 대조군과 유사하여 이후의 추가실험에서는 100, 10, 1 μ g/mL 농도의 거품돌산호 추출물을 처리하였다.

거품돌산호 추출물에 의한 Tyrosinase 효소 활성 저해 - Tyrosinase는 L-tyrosine과 반응하여 L-DOPA를 생성하고, L-DOPA는 tyrosinase와 반응하여 DOPAquinone을 생성한 후 최종적으로 eumelanin과 pheomelanin을 생성함으로써 멜라닌 합성반응을 조절하는 핵심적인 효소로 알려져 있다.^{4,5)} 본 실험에서 거품돌산호 추출물의 tyrosinase 활성 저해 정도를 평가하기 위하여 거품돌산호 추출물을 100, 10, 1 μ g/mL의 농도로 처리하였고 kojic acid를 양성대조군으로 사용하여 tyrosinase 활성 저해 정도를 확인하였다. 거품돌산호 추출물에 의해 농도 의존적으로 tyrosinase 활성이 억제됨을 확인할 수 있었다. 100, 10, 1 μ g/mL 농도의 거품돌산호 추출물 처리군에서 각각 56.4, 43.0, 16.5%의 tyrosinase 억제 효과를 나타냄을 확인하였다(Fig. 2).

거품돌산호 추출물 처리에 의한 B16F10 세포주의 mRNA 발현 - 자외선(UV)은 직접적으로 멜라닌 형성세포를 자극하여 멜라닌색소를 생성하는 것이 아니라 여러 단계의 세부

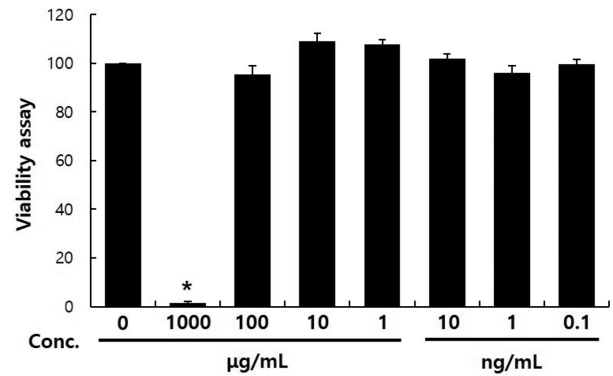


Fig. 1. Cytotoxicity of *Alveopora japonica* extract. B16F10 cells were seeded (2×10^4 cells) in 96-well plate and treated with the indicated concentration of *A. japonica* extract 24 hr. Cell viability was measured by CCK-8 assay. Results are presented as the mean \pm S.D. of the percentage of control optical density in triplicates. * $p < 0.05$ compared to control.

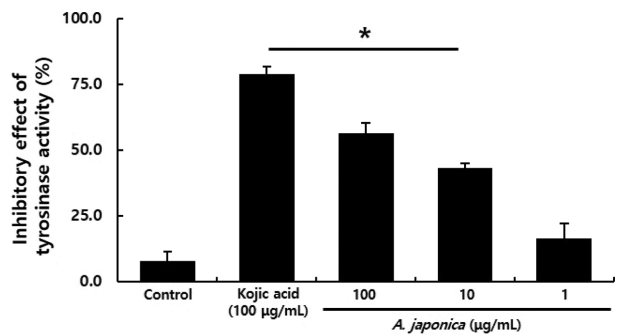


Fig. 2. Tyrosinase activity inhibition effect of *A. japonica* extract. Results are the average of triplicate samples. * $p < 0.05$ compared with the control.

신호전달체계를 거쳐 멜라닌색소를 생성하게 한다. UV는 표피층에 존재하는 각질형성세포를 자극하여 멜라닌형성세포를 자극하는 호르몬인 α -melanocyte stimulating hormone (α -MSH)의 발현을 유발하여, 세포의 외부로 분비하고, 분비된 α -MSH는 멜라닌형성세포의 세포막 단백질인 melanocortin 1 receptor(MC1R)에 결합하여 세포 내부로 멜라닌 합성에 관련된 신호전달을 유도해 멜라닌 색소의 생성을 유발한다.⁵⁾ 본 실험에서는 B16F10 세포주의 멜라닌색소 생성을 유발하기 위하여 α -MSH(200 nM)를 처리하여 B16F10 세포주의 멜라닌 생성을 유도하였다. α -MSH를 처리한 B16F10 세포주에 거품돌산호 추출물을 처리하여 α -MSH 처리에 의해 증가하는 표지인자인 *TYRP1*, *TYRP2*, *TYR*, *MITF* 유전자의 발현양을 실시간 유전자 증합효소 연쇄반응(Real-time RT-PCR)을 통하여 확인하였다. B16F10 세포주에 거품돌산호 추출물을 처리하고 Real-time RT-PCR을 통하여 표지인자 발현을 확인한 결과, α -MSH 처리군 대비 거품돌산호 추출물

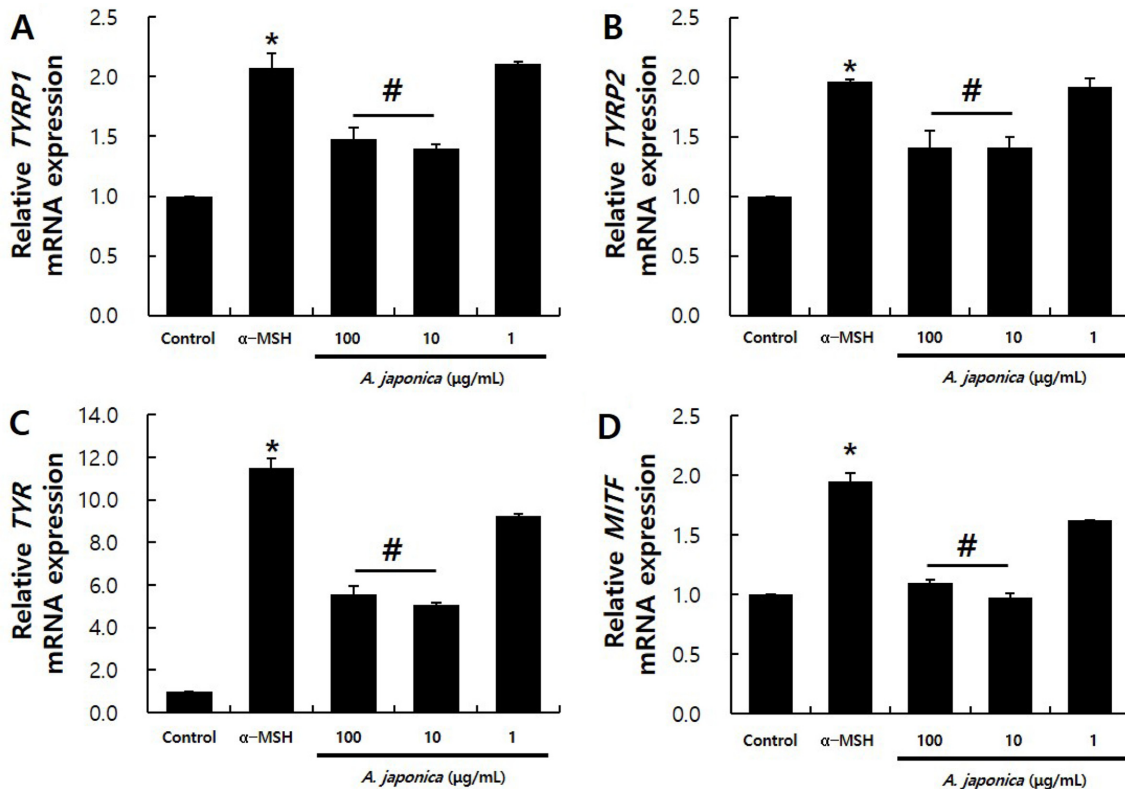


Fig. 3. Characterization of *A. japonica* extract treatment on α -MSH-treated B16F10 cells. Real-time RT-PCR analysis of melanocyte markers *TYRP1* (A), *TYRP2* (B), *TYR* (C) and *MITF* (D). Values are mean \pm S.D. of three independent experiments. * significantly different compared to control, $p < 0.05$. # significantly different compared to α -MSH-treated condition, $p < 0.05$.

처리군에서 *TYRP1*, *TYRP2*, *TYR*, *MITF*의 발현이 유의성 있게 감소함을 확인하였다. 특별히 100 μ g/mL의 거품돌산호 추출물을 처리한 실험군에서 *TYRP1*, *TYRP2*, *TYR*, *MITF* 유전자 발현이 각각 28.6, 28.0, 51.7, 43.8% 감소되는 효과를 보였다(Fig. 3). 10 μ g/mL의 거품돌산호 추출물을 처리한 실험군에서도 유의성 있게 표지인자의 발현을 감소시킬 수 있었고, 1 μ g/mL의 거품돌산호 추출물 처리군에서는 *TYRP1*, *TYRP2*, *TYR*, *MITF*의 발현이 유의성 있게 감소시키지 못하였다.

거품돌산호 추출물이 B16F10 세포주의 표지인자인 *TYRP1*, *TYRP2*, *TYR*, *MITF*의 발현을 감소시킬 뿐만 아니라(Fig. 3), tyrosinase 효소의 발현을 동시에 억제시킴으로(Fig. 2) 멜라닌 생성을 억제시킬 수 있는 소재로서의 가능성을 확인할 수 있었다.

거품돌산호 추출물의 멜라닌 생성을 저하 효과 - 거품돌산호 추출물이 멜라닌색소 생성에 필수적인 표지인자의 발현량을 감소시킬 수 있음을 확인한 이후(Fig. 3), B16F10 세포주에서 멜라닌색소 생성이 실질적으로 감소되는지를 알아보기 위해 멜라닌색소 생성률을 확인하였다(Fig. 4). 거품돌산호 추출물을 각각 100, 10, 1 μ g/mL 농도로 처리한

B16F10 세포주를 수확하여 멜라닌색소 생성 정도를 확인한 결과, 멜라닌색소의 생성이 100, 10 μ g/mL 농도의 거품돌산호 추출물에 의해 현저하게 감소함을 육안으로 확인할 수 있었다(Fig. 4A). 추가적으로 멜라닌색소 생성량을 정량화하여 확인한 결과, 거품돌산호 추출물을 처리할 때 멜라닌색소의 생성이 대조군 대비 감소됨을 확인할 수 있었다(Fig. 4B). 거품돌산호 추출물을 100, 10 μ g/mL 처리했을 때 멜라닌색소의 생성률이 각각 55.4, 54.8% 감소하여 대조군 대비 유의성 있게 감소하였다(Fig. 4B). 이 결과는 멜라닌색소 생성에 핵심적인 표지인자의 mRNA 발현량에 대한 Real-time RT-PCR의 실험 결과와 일치하는 경향성을 보이며, 거품돌산호 추출물은 멜라닌 생성에 관여하는 표지인자의 발현에 영향을 끼칠 뿐 아니라 멜라닌색소 생성 결과에도 일관성 있는 효능을 보임을 확인하였다.

기존의 거품돌산호 추출물에 대한 연구에서 거품돌산호 추출물 내에 ergosta-5,24(28)-dien-3 β -ol, eicosanoic acid와 tetracosanoic acid의 복합체, thymine, 2'-deoxythymidine, hexadecyl tetradecanoate라는 지포물질이 존재한다고 보고된 바 있다.^{14,18)} 하지만 기 보고된 지포물질들의 멜라닌생성 억제에 대한 연구가 전무한 실정이다. 따라서 추후 거품

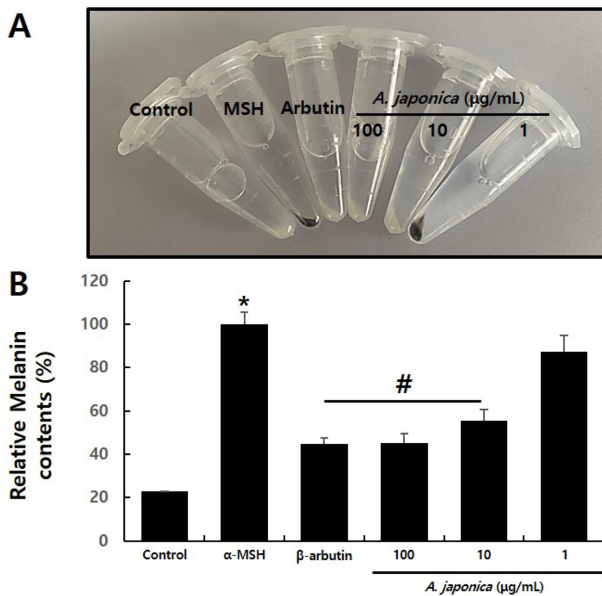


Fig. 4. Melanin synthesis inhibition of *A. japonica* extract on B16F10 cells. Representative image of B16F10 cells after *A. japonica* extract treatment (A). Treated cells were lysed with 1 N NaOH and absorbance was measured at 405 nm (B). Results are expressed as means ± S.D. of three independent experiments. * compared to control, $p < 0.05$. # compared to α-MSH-treated condition, $p < 0.05$.

들산호 추출물의 멜라닌생성 억제제가 위의 지표물질 중 어느 물질에 의해 이루어 지는지에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결론

자외선(UV)은 살균작용 및 피부 내에서 비타민 D를 합성하는 등의 유익한 기능도 있으나, 피부 탄력저하, 주름생성, 색소침착, 홍반, 염증 등을 야기하고, 세포내 활성산소종의 반응 등을 유도해 노화를 유발한다.^{19,20} 또한 UV 등과 같은 외인성 노화는 생체내 존재하는 세포의 감소 및 기능저하를 통해 정상적인 조직으로의 기능, 조직의 손상 시 재생을 하지 못하게 된다.^{21,22}

본 연구를 통해 거품돌산호 추출물을 B16F10 세포주에 처리할 적절한 농도를 확인할 수 있었다. 100 µg/mL의 농도에서는 세포주의 생존에 영향을 미치지 않음을 확인하였다. TYR 효소의 활성 억제능 측정결과에서 100, 10 µg/mL 농도의 거품돌산호 추출물이 tyrosinase의 활성을 유의성있게 감소시킴을 확인하였다. 또한 *TYRP1*, *TYRP2*, *TYR*과 *MITF* mRNA 발현 측정에서 거품돌산호 추출물이 α-MSH에 의해 증가된 표지인자의 발현을 유의성 있게 감소시킴을 확인할 수 있었다. 추가적으로 거품돌산호 추출물이 B16F10

세포에서 멜라닌 색소 생성을 감소시킴을 확인하였다. 이러한 결과를 바탕으로 거품돌산호 추출물이 새로운 멜라닌 합성 억제 후보물질로서의 가능성을 보여준다.

거품돌산호 추출물의 멜라닌 합성 억제 효과를 확인한 결과로는 본 연구가 최초이며, UV에 의한 외인성 노화를 억제할 수 있는 가능성을 제시한 결과라고 보여진다. 추가적으로 거품돌산호 추출물이 B16F10 세포주에서 어떠한 신호전달 기전에 의해 멜라닌 색소 생성에 영향을 미치는지, 거품돌산호 추출물의 어떤 지표물질이 멜라닌 색소의 합성을 저해하는지, 항산화효과와 미백에 관여하는 신호전달체계, 그리고 멜라닌형성세포에 존재하는 다양한 항산화효소에 미치는 영향에 대해 추가연구와 심도있는 연구가 필요할 것으로 보인다.

사사

이 논문은 2021학년도 세명대학교 교내학술연구비 지원에 의해 수행된 연구임.

인용문헌

- Bonaventure, J., Domingues, M. J. and Larue, L. (2013) Cellular and molecular mechanisms controlling the migration of melanocytes and melanoma cells. *Pigment Cell Melanoma Res.* **26**: 316-325.
- Gilchrest, B. A. and Eller, M. S. (1999) DNA photodamage stimulates melanogenesis and other photoprotective responses. *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.* **4**: 35-40.
- Sugumaran, M. (2002) Comparative biochemistry of eumelanogenesis and the protective roles of phenoloxidase and melanin in insects. *Pigment Cell Res.* **15**: 2-9.
- Ito, S. and Wakamatsu, K. (2003) Quantitative analysis of eumelanin and pheomelanin in humans, mice, and other animals: a comparative review. *Pigment Cell Res.* **16**: 523-531.
- Yoon, Y. M., Bae, S. H., An, S. K., Choe, Y. B., Ahn, K. J. and An, I. S. (2013) Effects of ultraviolet radiation on the skin and skin cell signaling pathways. *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.* **11**: 417-426.
- Baek, Y. S., Ryu, Y. B., Curtis-Long, M. J., Ha, T. J., Rengasamy, R., Yang, M. S. and Park, K. H. (2009) Tyrosinase inhibitory effects of 1,3-diphenylpropanes from *Broussonetia kazinoki*. *Bioorg. Med. Chem.* **17**: 35-41.
- Kim, H. J., Seo, S. H., Lee, B. G. and Lee, Y. S. (2005) Identification of tyrosinase inhibitors from *Glycyrrhiza uralensis*. *Planta Med.* **71**: 785-787.
- Han, N. K., Park, C. M., Kwon, J. C., Joung, M. S. and Choi, J. W. (2014) Whitening effect of *Fagopyrum tataricum* extract. *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea* **40**: 179-186.
- Kim, B. Y., Park, S. H., Park, B. J. and Kim, J. J. (2015)

- Whitening effect of *Androsace umbellata* extract. *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea* **41**: 21-26.
10. Burd, B. J., Barner, P. A., Wright, C. A. and Thomson R. E. (2008) A review of subtidal benthic habitats and invertebrate biota of the strait of Gerogia. *British Columbia. Mar. Environ. Res.* **66**: S3-S38.
 11. Thouzeau, G., Robert, G and Ugarte, R. (1991) Faunal assemblages of benthic megainvertebrates inhabiting sea scallop grounds from eastern Georges Bank, in relation to environmental factors. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **74**: 61-92.
 12. Oak, J. H., Keum, Y. S., Hwang, M. S. and Oh, Y. S. (2004) Subtidal algal community of Supseom and Seongsanpo in Jeju Island. *Underwater Sci. Tech.* **5**: 3-9.
 13. Noseworthy, R. G., Hong, H. K., Keshavmurthy, S., Lee, H. J., Jeung, H. D., Ju, S. J., Kim, J. B., Jung, S. G and Choi, K. S. (2016) An assemblage of mollusks associated with the high latitude scleractinian coral *Alveopora japonica* (Eguchi 1968) in Jeju island, off the south coast of Korea. *Ocean Sci. J.* **51**: 21-31.
 14. Lee, Y. J., Lee, Y. E., Han, A. R., Song, J. I., Kwon, Y. J. and Seo, E. K. (2012) Evaluation of u-Calpain inhibitory activity of Korean indigenous marine organism extracts. *Natural Product Sciences* **18**: 102-105.
 15. Carragher, N. O. (2006) Calpain inhibition: a therapeutic strategy targeting multiple disease states. *Curr. Pharm. De.* **12**: 615-638.
 16. Shim, J. H. (2021) Whitening effects of anthracin on B16F10 cells. *Kor. J. Pharmacogn.* **52**: 13-18.
 17. Hosoi, J., Abe, E., Suda, T. and Kuroki, T. (1985) Regulation of melanin synthesis of B16 mouse melanoma cells by 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 and retinoic acid. *Cancer Res.* **45**: 1474-1478.
 18. Youn, U. J., Lee, Y. J., Jeon, H. R., Shin, H. J., Son, Y. M., Nam, J. W., Han, A. R., Song, J. I., Won, Y. J. and Seo, E. K. (2011) Chemical constituents from the stony coral *Alveopora japonica*. *Natural Product Sciences* **17**: 1-4.
 19. Talwar, H. S., Griffiths, C. E., Fisher, G. J., Hamilton, T. A. and Voorhees, J. J. (1995) Reduced type I and type III procollagens in photodamaged adult human skin. *J. Invest. Dermatol.* **105**: 285-290.
 20. Kim, J., Lee, C. W., Kim, E. K., Lee, S. J., Park, N. H., Kim, H. S., Kim, H. K., Char, K., Jang, Y. P. and Kim, J. W. (2011) Inhibition effect of *Gynura procumbens* extract on UV-B-induced matrix-metalloproteinase expression in human dermal fibroblasts. *J. Ethnopharmacol.* **137**: 427-433.
 21. Kirkwood, T. B. (2005) Understanding the odd science of aging. *Cell* **120**: 437-447.
 22. Jones, D. L. and Rando, T. A. (2011) Emerging models and paradigms for stem cell ageing. *Nat. Cell Biol.* **13**: 506-512.

(2021. 7. 5 접수; 2021. 8. 3 심사; 2021. 8. 6 게재확정)