pISSN 1738-2696 · eISSN 2212-5469
http://dx.doi.org/10.1007/s13770-014-0429-5
ORIGINAL ARTICLE

TERM

Screening System Establishment for Potential Anti-Aging Agent Using UVA-Induced Aging of Human Dermal Stem/Progenitor Cells

Joong Hyun Shim*

Department of Oriental Cosmetic Science, Semyung University, Jecheon, Korea

Tissue specific stem cells were identified in adult stromal tissues. Ultraviolet (UV) radiation induces photo-aging on human skin. Because of UVA irradiation, it is thought that aging phenomenon such as skin elasticity reduction, wrinkle formation, and retardation of wound healing were occurred. In the present study we found that reduction of human dermal stem/progenitor cells (hDSPCs) functionality by UVA irradiation. We enriched hDSPCs from normal human dermal fibroblasts. To develop the screening system for potential anti-aging agent using hDSPCs, we treated UVA in the hDSPCs. To evaluate whether the stemness of hDSPCs is down-regulated in UVA treated hDSPCs, we measured the expression levels of SOX2, NANOG, and S100B, which are well-known representative dermal stem/progenitor cell markers. We observed that UVA-irradiated hDSPCs had lower expression levels of those markers compared with non-treated hDSPCs. Furthermore UVA irradiation reduces the multipotency of hDSPCs to differentiate into adipocytes, chondrocytes, and osteoblasts. In this study, we suggest that chronic aging model by UVA treated hDSPCs can be used for new screening system for anti-aging agents.

Tissue Eng Regen Med 2015;12(Suppl 2):155-161

Key Words: Human dermal stem/progenitor cells; Ultraviolet; Aging

INTRODUCTION

성체의 조직에는 다양한 성체줄기세포(Adult stem cells)가 존재한다고 알려져 있다. 골수에 존재하는 골수유래 중간엽줄기세포(Bone marrow derived mesenchymal stem cells)와 지방, 탯줄, 양수 등 다양한 조직에서의 성체줄기세포가 그러한 예이다 [1,2]. 이러한 성체 줄기세포의 발견은 각 조직의 손상 회복과 재생의 중요한 역할을 할 수 있음을 내포하고 있다.

피부는 우리 몸의 항상성을 저해하는 외부 요인의 위해를 막아 주는 일차적인 보호기관이다. 즉, 외부의 화학적, 물리적, 생물학적 장벽기능을 수행하고 있으나 외부의 지속적인 스트레스에 의해 손상을 받게 된다. 외부의 주요 스트레스요인은 자외선, 미세먼지, 오염물질, 미생물의 번식 등을 대표적인 예로 들 수 있으며 이들은 활성산소종(Reactive Oxygen Species, ROS)을 생성하여 피부세포의 손상과 사멸을 유도하게 된다.

외부 스트레스 중 자외선(Ultra Violet, UV)은 파장의 길이에 따라 UVA(장파장, 320~400 nm), UVB(중파장, 290~320 nm), UVC(단파장, 200~290 nm)으로 구분 된다. 특별히 UVA는 피부 내 진피층까지 도달하여 진피섬유아세포에 광 노화를 유발하고 교원 및 탄력섬유의 변성으로 인한 피부탄력감소, 주름형성, 광알러지, 피부암 등을 유발할 수 있다. UVA 조사 후 진피층의 활성 산소 증가와 섬유아세포의 콜라겐 I(collagen type I) 합성의 감소와 기질 금속 단백 분해효소 1(matrix metalloproteinase-1, MMP-1)의 증가로 인한 광노화의 촉진이 보고 된 바 있다 [3].

피부는 외배엽 유래의 표피와 중배엽 유래의 진피, 모발과 분비샘과 같은 부속기로 구성이 되어 있다. 표피에는 표피 줄기세포(Epidermal stem cell)와 멜라노사이트 줄기세포(Melanocyte stem cell)가 존재하여 피부재생과 상처치유, 모발의 흑색 유지 등에 중요한 역할을 담당 한다는 것이 수 십년 간 많은 연구가 되어 왔다 [4,5]. 또한 모낭(Hair follicle)의 기모근 기시부(Bulge region)에 존재하는 모낭줄기세포(Hair follicle stem cell)은 상처 후 모발 재생 등에 중요한 역할이 보고되었다 [6]. 진피층은 표피에 비해 커다란 조직임에도 불구하고 진피층 내 존재하는 성체줄기세포에 관한 연구는 미비한 실정이다. 2001년, 생쥐의 진피에 존재하는 성체줄기세포의 발견이 보고 된 이후 인체에도 진피층 내 줄기세포가 존재한다는 결과가 보고 되었다 [7,8].

Received: November 20, 2014
Revised: February 7, 2015
Accepted: February 9, 2015
***Corresponding author:** Joong Hyun Shim, Department of Oriental Cosmetic Science, Semyung University, 65 Semyung-ro, Jecheon 390-711, Korea.
Tel: 82-43-64-1615, Fax: 82-43-649-1730, E-mail: jhshim@semyung.ac.kr

© The Korean Tissue Engineering and Regenerative Medicine Society

또한 분리된 진피줄기세포(Human dermal stem/progenitor cells)의 배양액이 피부의 재생, 예를 들면 상처치유와 UVA에 의해 유발된 세포사멸에 의한 피부세포의 감소를 회복시키는 역할 등의 효과가 기 보고된 바 있다 [9].

피부의 탄력과 주름을 개선하고 진피층의 섬유아세포를 활성화 시키는 식품의약품안전처 고시 원료로는 레티놀(Retinol), 아데노신(Adenosine) 등의 성분들이 있으며, 이들 성분을 함유한 제품들이 주름개선의 효과를 보이는 것으로 알려져 있다 [10,11]. 이러한 성분은 기질금속단백분해효소의 활성을 억제시키거나 콜라겐의 생성을 촉진하여 피부 노화를 개선한다고 알려져 있다. 그러나 새로운 노화개선유효성평가의 개발이 절실한 시점에서 현재 국내외의 연구동향을 살펴보면 성체줄기세포를 활용한 유효성평가법의 개발이 전무한 상태이고 기존의 평가법을 활용한 신규 소재 개발이나 기존 원료의 안정화나 피부흡수율개선에만 한정하여 연구되고 있는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 진피층에 존재하는 진피줄기세포를 분리 동정하여 자외선조사를 통한 적절한 노화조건을 확립하여 새로운 노화개선 유효성 평가기술을 개발하는데 도움을 주고자 한다. 구체적으로 진피 섬유아세포에서 분리해 낸 진피줄기세포에 UVA를 조사하여 진피줄기세포의 바이오 마커인 SOX2, NANOG, S100B의 발현이 감소하는 노화조건을 확립하였고, 이렇게 노화된 진피줄기세포는 정상 진피줄기세포에 비해 지방세포, 골아세포, 연골세포로 분화할 수 있는 다분화능이 현저하게 감소함을 확인하였다. 이를 바탕으로 UVA에 인한 진피줄기세포의 줄기세포성 감소를 회복할 수 있는 신규 항노화 소재 개발의 기본이 되는 유효성 평가법으로 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

MATERIALS AND METHODS

세포배양 및 진피줄기세포의 분리

인간피부 진피유래 섬유아세포(normal human dermal fibroblast)는 Lonza(Sweden)에서 구매하여 사용하였으며, 세포 배양을 위한 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM), fetal bovine serum(FBS)는 Lonza(Sweden)에서, 항생제(Penicillin/streptomycin)은 Invitrogen(USA)에서 구입하여 사용하였다. 본 실험에서 사용된 섬유아세포는 3번째 계대배양 이내의 세포만 사용하였다.

진피줄기세포를 분리하기 위한 콜라겐 4(Collagen type IV)는 Sigma(USA) 제품을 사용하였다. 기 보고된 실험방법을 통하여 진피줄기세포를 분리할 수 있었다 [10]. 간략히, 인간피부 진피유래 섬유아세포가 콜라겐 4가 코팅된 배양접시에 5분 이내에 접합하게 되면 진피줄기세포로 명명하고 본 실험에 사용하였다.

진피줄기세포의 배양

진피줄기세포는 부유배양을 통해 줄기세포성을 유지하는 특성이 있어 HydroCell(Nunc, Denmark) 배양접시에 DMEM 배지를 사용하여 2일간 배양하였다. 세포의 모양은 IX71 위상차현미경(Olympus, Japan)으로 관찰하였고 DP70 카메라(Olympus, Japan)로 세포이미지를 촬영하였다.

자외선조사

UVA 조사로 인한 진피줄기세포의 노화 및 줄기세포성 감소를 확인하기 위해서 UVA를 하기와 같은 조건으로 처리하였다. 분리된 진피줄기세포를 2×10^5개/2 mL가 되도록 phenol red가 첨가되지 않은 DMEM을 사용하여 35π HydroCell 배양접시에 접종한 후 자외선조사장치(BioSun, VilberLourmat, France)를 사용하여 UVA를 조사하였다.

세포생존율 측정

세포생존율은 Cell counting kit-8(CCK8, Dojindo, Japan) 분석법을이용하였다. 진피줄기세포를 35π HydroCell 배양접시에 2×10^5개/2 mL의 세포를 접종한 후 UVA를 조사한다. UVA가 조사된 진피줄기세포를 48시간 배양한 후 CCK8 시약을 첨가하여 2시간 동안 5% CO_2, 37℃ 배양기에서 배양하였다. ELISA reader(Molecular Devices, USA)를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 세포를 첨가하지 않은 배지만 넣은 대조군의 흡광도를 기준으로 세포생존율을 산출하였다.

RNA 추출 및 실시간 유전자중합효소연쇄반응 (Real-time RT-PCR)

Ambion사의 TRIzol Reagent(USA)를 사용하여 RNA를 추출하였다. 추출한 RNA로부터 cDNA의 합성은 Superscript III reverse transcriptase(Invitrogen, USA)를 사용하여 합성하였으며, 진피줄기세포의 바이오마커와 지방세포, 골아세포, 연골세포의 바이오마커의 발현을 비교측정하기 위하여 Real-time RT-PCR (Applied Biosystems, USA)을 진행하였다. 실험에 사용된 특정 Taqman gene expression assay는 Table 1과 같다.

진피줄기세포의 다분화능 평가를 위한 분화

분리된 진피줄기세포의 지방세포, 연골세포, 골아세포로의 분화능을 확인하기 위해서 각각의 세포로 분화를 유도하였다. 분화배지는 2~3일 마다교체하였다.

지방분화를 위해서 1 g/L의 글루코스(Glucose)가 함유된

Table 1. Gene name and assay ID number in real-time RT-PCR analysis

Symbol	Gene name	Assay ID
SOX2	SRY (sex determining region Y)-box 2	Hs01053049_s1
NANOG	Nanoghomeobox	Hs04260366_g1
S100B	S100 calcium binding protein B	Hs00902901_m1
OGN	Osteoglycin	Hs00247901_m1
OCN	Bone gamma-carboxyglutamate (gla) protein	Hs01587814_g1
PPARG	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma	Hs01115513_m1
LEP	Leptin	Hs00174877_m1
ADIPOQ	Adiponectin, C1Q and collagen domain containing	Hs00605917_m1
FABP4	Fatty acid binding protein 4, adipocyte	Hs00609791_m1
ACAN	Aggrecan	Hs00153936_m1
COL2A1	Collagen, type II, alpha 1	Hs00264051_m1
GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	43333764F

DMEM에 10%의 FBS와 0.5 mM의 3-isobutyl-1-methylxanthine(IBMX, Sigma, USA), 1 μM의 dexamethasone(Sigma, USA), 10 μg/mL의 인슐린(Sigma, USA)과 2 μM의 troglitazone(Sigma, USA)를 첨가하여 2주간 배양하였다.

골아세포로의 분화를 위하여 Lonza(Sweden)사의 human mesenchymal stem cell osteogenic bullet kit를 사용하여 3주간 배양하였다.

연골세포로 분화시키기 위해 hMSCChondrogenic bullet kit (Lonza, Sweden)로 3주간 진피줄기세포를 배양하였다.

조직화학염색법

지방세포로 분화된 진피줄기세포를 확인하기 위해 세포내의 지방구를 Oil Red O로 염색하였다. 세포는 4% paraformaldehyde로 10분간 상온에서 고정 후, 60% isopropanol로 세척한다. 그리고 세포를 Oil Red O 염색약(Sigma, USA)으로 10분간 상온에서 염색한다. 과도한 염색은 70% 에탄올로 제거하고 PBS로 세척한다.

골아세포로 분화된 진피줄기세포를 확인하기 위해 alkaline phosphtase(ALP; Takara, Japan) 염색시약을 사용하였다. 분화된 세포는 45%의 아세톤과 10%의 메탄올이 첨가된 citrate buffer로 상온에서 5분간 고정한 후, ALP 염색제로 37℃에서 30분간 염색한다, 이후 3차 증류수로 3차례 세척한 후 현미경으로 관찰한다.

RESULTS

UVA 조사량에 따른 진피줄기세포의 생존율 분석

노화의 진행은 조직과 기관의 항상성과 재생기능의 점진적인 감소에 의한 현상이다 [12]. 특별히 내인성 노화나 외인성 노화(대표적으로 광노화)에 의한 피부의 노화는 피부의 탄력성 감소, 주름의 증가, 상처 회복의 지연 등이 대표적인 특징이라 할 수 있다 [13]. 이러한 노화와 연계된 변화들은 피부 내 성체줄기세포의 기능감소가 중요한 원인으로 생각된다 [14].

UVA는 UVB와는 다르게 피부진피의 깊은 층까지 투과할 수 있고 산화 스트레스를 유발하여 노화를 유발하는 인자이다 [13]. 활성 산소종의 하나인 과산화수소는 UVA에 의해 증가되어 세포독성을 유발한다고 알려져 있다. 따라서 피부 진피층에 도달하여 광노화를 유발하는 UVA를 진피줄기세포 노화 유발을 위한 인자로 선정하였다. UVA가 진피줄기세포에 미치는 독성을 알아보기 위해, 섬유아세포로부터 분리된 진피줄기세포에 각각 1.5, 3, 4.5, 6, 7.5 J/cm^{2}로 UVA를 조사하였다. 이후 2일간 부유배양을 한 후, CCK8 assay로 진피 줄기세포의 생존율을 분석하였다. CCK8 assay는 tetrazolium이 살아있는 세포의 미토콘드리아 효소에 의한 formazan으로 변환되는 것을 측정하는 분석법이다. 6 J/cm^2 이상의 UVA가 조사된 진피줄기세포에서 50% 이상의 세포독성을 확인하였다 (Fig. 1). 그리고 진피줄기세포를 부유 배양하게 되면 3차원의 구(Sphere)를 형성하게 되는데 6 J/cm^2 이상의 UVA가 조사 된 진피줄기세포는 부유배양을 하더라도 구를 형성하지 못하고 진피 줄기세포의 특징을 잃게 된다(Fig. 1B and C). 위의 결과를 바탕으로 진피줄기세포의 노화 조건을 확립하기 위해 4.5 J/cm^{2}의 조사량을 선정하였다. 진피줄기세포에 4.5 J/cm^{2}의 UVA를 조사하는 노화모델 제작 방법으로 (1) 급성(Acute) 노화모델, (2) 만성(Chronic) 노화모델의 두 가지 실험법을 각각 구상하여 추가실험을 진행하였다 (Fig. 2).

UVA 조사가 진피줄기세포 바이오마커의 발현에 미치는 영향

진피줄기세포에 4.5 J/cm^{2}의 UVA를 한차례 조사한 후 2일간 배양한 급성(Acute) 노화 모델의 진피줄기세포 바이오마커인

SOX2, NANOG, S100B의 발현 양을 실시간 유전자중합효소연쇄반응을 통하여 확인하였다. 진피줄기세포의 급성 노화모델에서는 진피줄기세포의 바이오마커의 발현이 대조군에 비해 유의성 있는 차이를 보이지 않았다(Data not shown). 반면 섬유아세포에서 진피줄기세포를 분리하여 1.5 J/cm^{2}의 UVA를 조사하고, 추가로 2일간 매일 한차례씩 1.5 J/cm^{2}의 UVA를 조사하여 총 3차례(총 UVA 조사량 4.5 J/cm^2)의 UVA를 조사한 진피줄기세포에서 줄기세포성(Stemness)을 잃어버리는 현상을 확인할 수 있었다. 줄기세포성의 대표적인 특징으로, 진피줄기세포는 SOX2, NANOG, S100B 등과 같은 특이적인 줄기세포 바이오마커를 발현하고 있다. 만성노화모델에서는 실시간유전자중합효소연쇄반응을 통하여 대조군 대비 SOX2의 발현이 58%, NANOG의 발현이 63%, S100B의 발현이 59% 감소하는 효과를 보였다 (Fig. 3). 본 결과를 통해 진피줄기세포에 UVA를 조사한 만성노화모델이 피부노화개선 후보물질을 검색할 수 있는 새로운 시스템으로서의 가능성을 확인하였다.

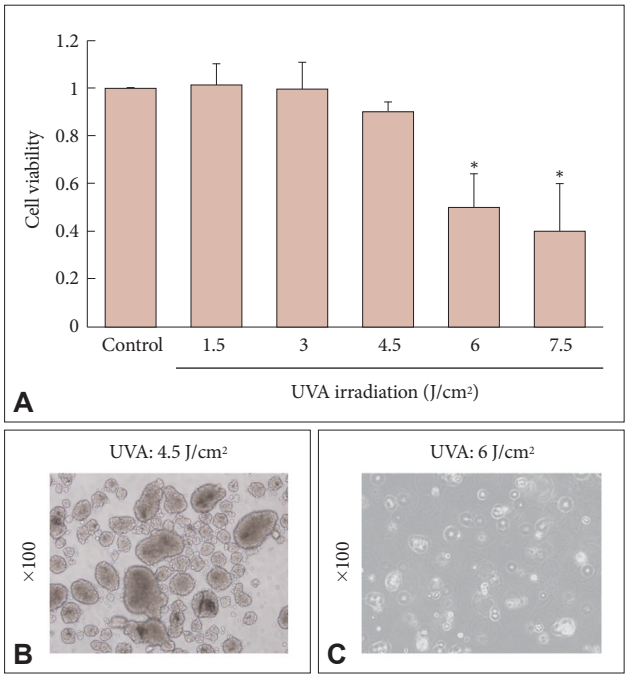

Figure 1. The effect of the UVA-irradiation on the viability of human dermal stem/progenitor cells. hDSPCs were treated with 0, 1.5, 3, 4.5, 6, 7.5 J/cm^2 of UVA (A). Representative images of UVA-treated (4.5 J/cm^2) hDSPCs (B) or (6 J/cm^2) hDSPCs (C) (magnification: ×200). Values represent the mean±standard deviation (SD) of three independent experiments. *p<0.01.

UVA 조사가 진피줄기세포의 분화능에 미치는 영향

성체줄기세포의 또 다른 특징은 여러 가지 세포로 분화할 수 있는 다분화능(Multipotency)을 지니고 있다는 것이다 [1,2]. 진피줄기세포는 지방세포, 골아세포, 연골세포등과 같은 중배엽성세포로 분화가 가능할 뿐 아니라 신경세포와 같은 외배엽성세포로도 분화가 가능하다는 것이 보고된 바 있다. 진피줄기세포에 UVA를 조사하여 만성노화모델을 적용하였을 때의 진피

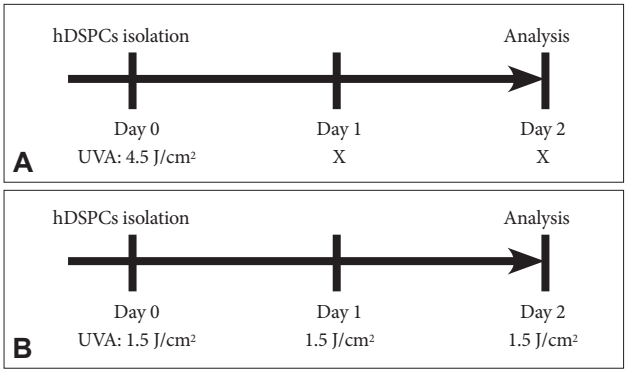

Figure 2. Scheme of the acute (A) and chronic (B) aging model of hDSPCs.

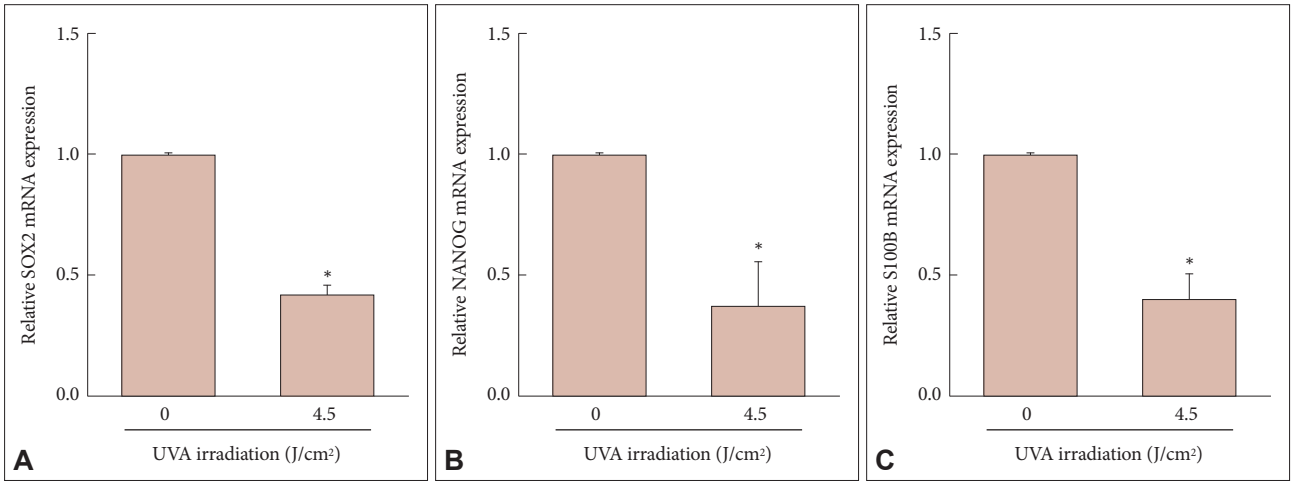

Figure 3. Characterization of UVA-irradiated hDSPCs. Real-time RT-PCR analysis of the hDSPC markers, SOX2 (A), NANOG (B) and S100B (C). Values represent the mean±standard deviation (SD) of three independent experiments. *p<0.01.

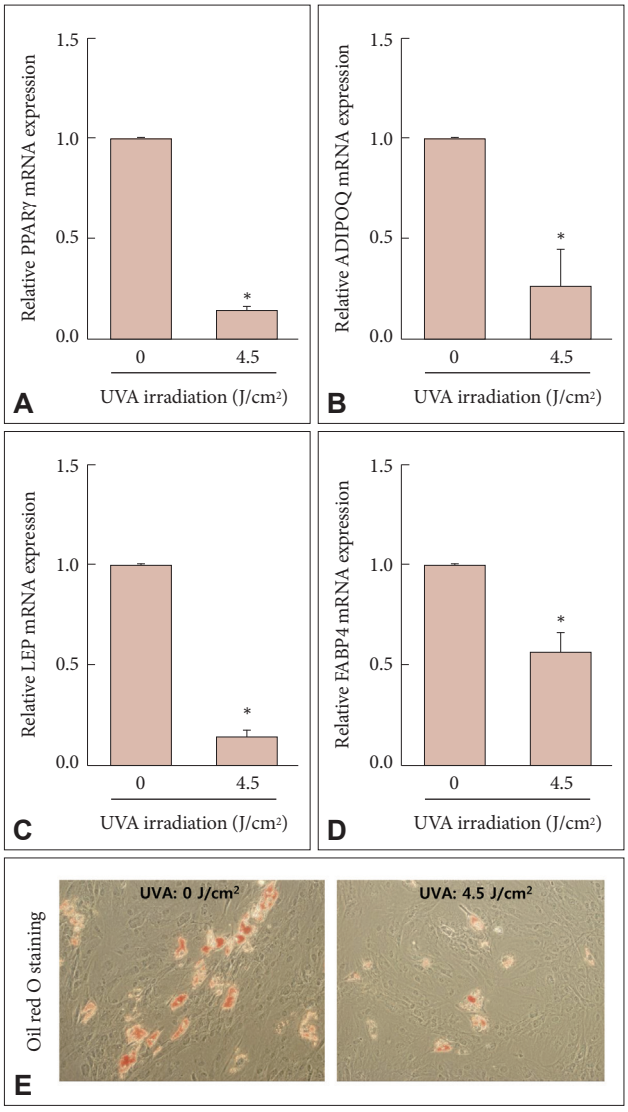

Figure 4. Adipogenic differentiation of hDSPCs after UVA irradiation. hDSPCs and UVA-irradiated hDSPCs were cultured in adipogenic-inducing medium for 14 days. Relative expression of PPARG (A), ADIPOQ (B), LEP (C), and FABP4 (D) were determined for each sample. Oil Red O staining was performed in each sample (E, ×200). The data represent the mean±standard deviation (SD) of three independent experiments. *p<0.01.

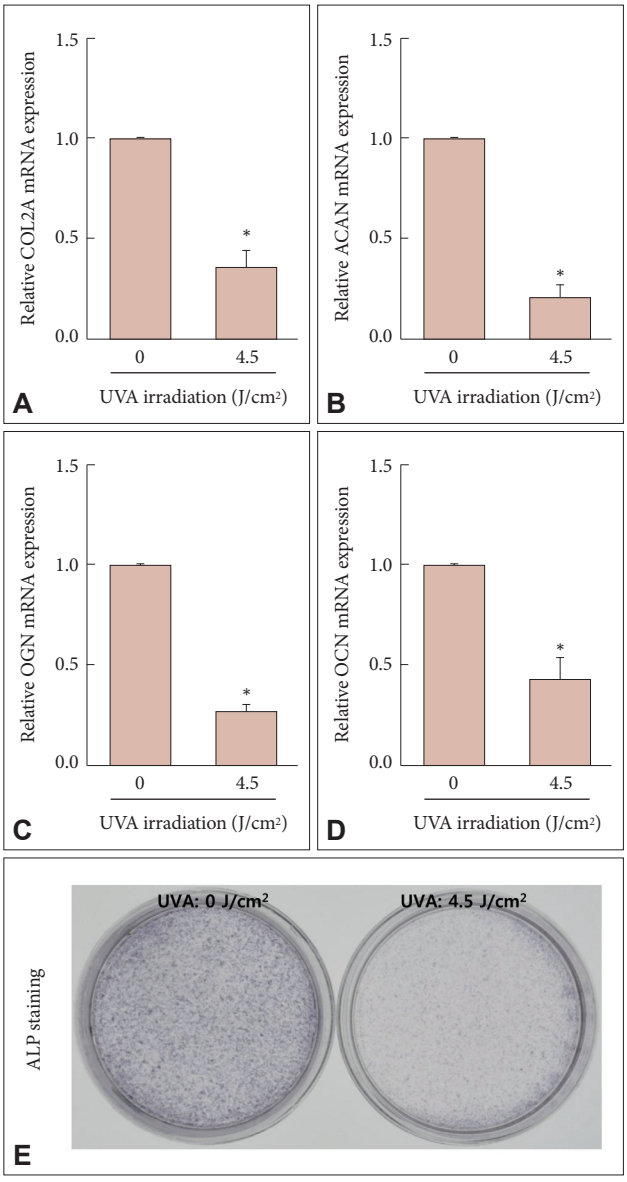

Figure 5. Multipotency of hDSPCs after UVA irradiation. hDSPCs and UVA-irradiated hDSPCs were cultured in chondrogenic or osteogenic-inducing medium for 21 days respectively. Relative chondrogenic marker expression of COL2A2 (A) and ACAN (B) were determined for each sample. Real-time RT-PCR analysis revealed down-regulation of OGN (C), and OCN (D) in UVA treated group. Alkaline phosphatase (ALP) staining was performed in each sample (E). The data represent the mean±standard deviation (SD) of three independent experiments. *p<0.01.

줄기세포의 다분화능을 확인 해보았다. UVA를 조사한 진피 줄기세포를 지방세포, 골아세포, 연골세포로 각각 분화를 유도하는 분화배지에 배양했을 때 대조군 대비 분화효율이 감소함을 확인하였다 (Figs. 4 and 5).

2주간 진피줄기세포를 지방세포로 분화를 유도한 후 실시간 유전자 중합효소연쇄반응을 통하여 분화 정도를 확인한 결과, 대조군 대비 UVA 조사를 받은 진피줄기세포에서 지방세포의 바이오마커인 PPARG의 발현이 86%, ADIPOQ의 발현이 72%, LEP의 발현이 86%, FABP4의 발현이 43% 감소함을 확인하였다 (Fig. 4A-D). 추가적으로 Oil Red O 염색법을 통해 대조군 대비 UVA 조사를 받은 진피줄기세포의 지방세포 분화정도를 확인하였다. Oil Red O 염색약은 지방세포의 지방구를 특이적으로 염색하는 시약으로 지방세포를 확인할 때 사용되는 대표적인 시약이다. UVA 조사를 받은 진피줄기세포는 대조군에 비해 지방세포로의 분화 효율이 저하 됨을 염색을 통해 확인할 수

있었다 (Fig. 4E).

진피줄기세포를 연골세포로 분화시키기 위해 3주간 분화배지로 배양한 후 분화정도를 확인한 결과, 대조군 대비 UVA 조사를 받은 진피줄기세포에서 연골세포의 바이오마커인 COL2A2의 발현이 54%, ACAN의 발현이 79% 감소함을 확인할 수 있었다 (Fig. 5A and B).

3주간 진피줄기세포를 골아세포로 분화를 유도한 후 실시간 유전자중합효소연쇄반응을 통하여 분화정도를 확인한 결과, 대조군 대비 UVA 조사를 받은 진피줄기세포에서 골아세포의 바이오마커인 OGN의 발현이 72%, OCN의 발현이 56% 감소함을 확인하였다 (Fig. 5C and D). 추가적으로 ALP 염색법을 통해 대조군 대비 UVA 조사를 받은 진피줄기세포의 지방세포분화 정도를 확인하였다. ALP 염색은 골아세포가 지닌 alkaline phosphatase 효소를 특이적으로 염색하는 조직화학염색법으로 골아세포의 확인을 위해 사용되는 대표적인 시약이다. UVA 조사를 받은 진피줄기세포는 대조군에 비해 골아세포로의 분화효율이 저하됨을 염색을 통해 확인 할 수 있었다 (Fig. 5E).

이 결과들을 바탕으로 UVA가 진피줄기세포의 줄기세포성의 대표적인 특징인 진피줄기세포 바이오마커의 발현과 다분화능을 감소시킴을 확인할 수 있었다.

DISCUSSION

노화에 의해 피부는 두꺼워지고 주름이 형성되고 염증 등의 증상이 나타나게 된다. 자외선과 같은 외부환경에 의해 피부는 활성산소종의 연쇄반응을 통해 노화가 촉진되고 피부질환이 발생하게 된다 [3]. 또한 노화는 성체 내 존재하는 성체줄기세포의 감소, 혹은 기능저하에 의해 정상적인 기능을 하는 조직으로의 재생, 기능을 하지 못하게 된다 [14]. 표피에 존재하는 표피줄기세포가 감소하게 되면 상처치유가 더뎌지고, 멜라노사이트 줄기세포가 감소하면 모발의 성장이 둔화되고 모발의 회색화(Hair graying)가 진행된다. 진피에 존재하는 진피줄기세포는 전체 진피섬유아세포의 0.3% 이내로 존재하며 진피층의 항상성과 재생에 중요한 역할을 담당하고 있다. 내인성 노화와 자외선과 같은 외부환경에 의해 노화가 진행되는 외인성 노화에 의해 피부에 존재하는 성체줄기세포의 기능이 감소하거나 줄기세포의 수적 감소가 일어나게 된다. 따라서 피부에 존재하는 성체줄기세포와 노화는 밀접한 상관관계가 있을 것으로 추정된다.

피부 노화 개선 후보물질 검색을 위한 시스템은 (1) HaCat세포나 각질형성세포(Epidermal keratinocyte)를 활용하여 보습관련인자 개선여부를 통한 후보물질검색, (2) 인간섬유아세포(Fibroblast)나 마우스 3T3 섬유아세포를 활용하여 노화/주름관련인자 개선여부를 통한 후보물질검색, (3) 멜라노사이트(Melanocyte)를 활용하여 미백관련인자 개선여부를 통한 후보물질검색에 한정되어 후보물질의 효능평가가 이루어져 왔다.

본 연구는 자외선이 진피줄기세포의 생존율에 악영향을 끼칠 수 있음을 확인하였다 (Fig. 1). 자외선이 진피줄기세포의 생존에는 적은 영향을 끼치며 진피줄기세포의 줄기세포성에 영향을 끼치는 적절한 자외선 조사량을 선정하였고, 만성/급성노화모델을 각각 적용하여 자외선에 의한 만성 노화모델을 실험에 적용하게 되었다. 자외선에 의한 만성 노화모델에서 진피줄기세포의 대표적인 특징인 (1) 진피줄기세포 바이오마커의 발현이 현저히 감소되고 (Fig. 3), (2) 진피줄기세포의 다분화능이 억제되는 현상을 확인하였다 (Figs. 4 and 5). 이는 자외선 조사에 의한 만성 노화모델이 새로운 피부노화개선 후보물질을 탐색할 수 있는 평가법으로의 가능성을 보여준다. 이 평가법을 통해 기존의 보습, 미백, 주름에 대한 효능을 구하는 평가법과 차별화 된 새로운 줄기세포평가법의 활용이 가능할 것으로 사료된다. 이를 토대로 향후 노화진피줄기세포를 보호/회복시키는 새로운 기능성 소재의 발굴이 가능할 것이다.

Acknowledgements

이 논문은 2014학년도 세명대학교 교내 학술 연구비지원에 의해 수행 된 연구임.

Conflicts of Interest

The author has no financial conflicts of interest.

Ethical Statement

There are no animal experiments carried out for this article.

REFERENCES

1. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. Nature 2002;418:41-49.
2. Bajada S, Mazakova I, Richardson JB, Ashammakhi N. Updates on stem cells and their applications in regenerative medicine. J Tissue Eng Regen Med 2008;2:169-183.
3. Talwar HS, Griffiths CE, Fisher GJ, Hamilton TA, Voorhees JJ. Reduced type I and type III procollagens in photodamaged adult human skin. J Invest Dermatol 1995;105:285-290.
4. Ghazizadeh S, Taichman LB. Multiple classes of stem cells in cutaneous epithelium: a lineage analysis of adult mouse skin. EMBO J 2001;20:15-22.
5. Gola M, Czajkowski R, Bajek A, Dura A, Drewa T. Melanocyte stem cells: biology and current aspects. Med Sci Monit 2012;18:155-159.
6. Myung P, Andl T, Ito M. Defining the hair follicle stem cell (Part II). J Cutan Pathol 2009;36:1134-1137.
7. Toma JG, Akhavan M, Fernandes KJ, Barnabé-Heider F, Sadikot A, Kaplan DR, et al. Isolation of multipotent adult stem cells from the dermis of mammalian skin. Nat Cell Biol 2001;3:778-784.
8. Toma JG1, McKenzie IA, Bagli D, Miller FD. Isolation and characteriza-

tion of multipotent skin-derived precursors from human skin. Stem Cells 2005;23:727-737.
9. Shim JH, Park JY, Lee MG, Kang HH, Lee TR, Shin DW. Human dermal stem/progenitor cell-derived conditioned medium ameliorates ultraviolet a-induced damage of normal human dermal fibroblasts. PLoS One 2013; 11:e67604.
10. Sorg O, Antille C, Kaya G, Saurat JH. Retinoids in cosmeceuticals. Dermatol Ther 2006;19:289-296.
11. Chan ES, Fernandez P, Merchant AA, Montesinos MC, Trzaska S, Desai A, et al. Adenosine A2A receptors in diffuse dermal fibrosis: pathogenic role in human dermal fibroblasts and in a murine model of scleroderma. Arthritis Rheum 2006;54:2632-2642.
12. Kirkwood TB. Understanding the odd science of aging. Cell 2005;120: 437-447.
13. Yaar M, Gilchrest BA. Photoageing: mechanism, prevention and therapy. Br J Dermatol 2007;157:874-887.
14. Jones DL, Rando TA. Emerging models and paradigms for stem cell ageing. Nat Cell Biol 2011;13:506-512.