

## 저분자 어류 콜라겐의 *In Vitro* 피부 생리활성 평가

노경백<sup>1</sup> · 전수원<sup>1</sup> · 조원태<sup>1</sup> · 정아형<sup>1</sup> · 지향기<sup>1</sup> · 조은애<sup>1</sup> · 이지혜<sup>2</sup> · 박덕훈<sup>1</sup> · 정은선<sup>1</sup>

<sup>1</sup>바이오스펙트럼(주)

<sup>2</sup>제노허브

### *In Vitro* Evaluation of Skin Bioactivities of Low-Molecular-Weight Fish Collagen

Kyung-Baeg Roh<sup>1</sup>, Suwon Jeon<sup>1</sup>, WonTae Jo<sup>1</sup>, A Hyung Jeong<sup>1</sup>, Hyanggi Ji<sup>1</sup>,  
Eunae Cho<sup>1</sup>, Jihye Lee<sup>2</sup>, Deokhoon Park<sup>1</sup>, and Eunsun Jung<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Biospectrum Life Science Institute

<sup>2</sup>GenoHerb Co., Ltd.

**ABSTRACT** This study evaluated the efficacy of low molecular weight hydrolyzed fish collagen (LMW-HFC) on biological pathways related to skin aging and inflammation. Treatment with LMW-HFC significantly enhanced hyaluronic acid synthesis, a key molecule for skin hydration in HaCaT. Furthermore, LMW-HFC suppressed the expression of matrix metalloproteinase-1 (MMP-1), a collagen-degrading enzyme associated with skin aging. It also inhibited the activity of 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11 $\beta$ -HSD1), an enzyme implicated in the intracellular activation of cortisol, attenuating cortisone-to-cortisol conversion and reducing cellular cortisol production. In human vascular endothelial cells, LMW-HFC reduced TNF- $\alpha$ -induced permeability, indicating a protective effect on the dermal microvasculature under inflammatory stress. Collectively, these findings show that LMW-HFC possesses multifunctional bioactivity and may be a promising skin health ingredient with moisturizing and anti-aging potential, in part by stabilizing the dermal microvascular function under inflammatory conditions.

**Keywords:** hydrolyzed fish collagen, skin ageing, hyaluronic acid, vascular permeability, stress

## 서 론

피부는 인체를 외부 환경으로부터 보호하는 가장 큰 장기로, 자외선, 환경오염, 온도 변화, 병원체 등 다양한 스트레스 요인에 끊임없이 노출된다(Ador, 2018; Hui-Beckman 등, 2023). 이러한 외부 환경적 스트레스뿐만 아니라 노화, 호르몬 변화, 산화 스트레스 및 만성 염증과 같은 내인성 요인들 역시 피부의 구조적·기능적 저하를 유도한다(Papaccio 등, 2022). 그 결과 주름 형성, 탄력 저하, 보습력 감소 등 다양한 노화 징후가 나타난다(Chen 등, 2021). 최근에는 피부 노화를 단순히 시간이 지남에 따른 변화가 아닌, 여러 생물학적 경로가 복합적으로 작용하여 발생하는 능동적인 과정으로 이해하고 있다. 이에 따라 이러한 노화 과정을 조절할 수 있는 생리활성 물질 개발이 기능성 화장품 분야에서 큰 주목을 받고 있다(Michalak 등, 2021).

피부 노화와 관련된 핵심 경로 중 하나는 콜라겐 대사의 변화이다(Panwar 등, 2018). 콜라겐은 진피층의 주요 구조 단백질로, 피부의 탄력과 견고함을 유지하는 데 결정적인 역할을 한다. 그러나 노화가 진행되면서 콜라겐 합성은 감소하고, 동시에 콜라겐 분해 효소인 matrix metalloproteinase-1(MMP-1)의 발현은 증가하게 된다(Fisher 등, 2009). 이는 진피 내 콜라겐 구조를 손상해 피부 탄력 저하와 주름 형성으로 이어진다. 따라서 콜라겐 분해를 억제하고 그 생성을 촉진하는 접근은 항노화 화장품 개발의 핵심 전략으로 간주된다(Brennan 등, 2003).

이러한 구조적 변화와 더불어, 피부의 수분 함량과 보습력은 젊고 건강한 피부의 중요한 지표로 작용한다. 히알루론산(hyaluronic acid, HA)은 표피와 진피에 널리 분포하며 수분을 끌어당겨 유지하는 고분자 물질로, 피부의 보습 및 탄력 유지에 필수적이다(Stern과 Maibach, 2008). 그러나

Received 3 September 2025; Revised 11 December 2025; Accepted 12 December 2025

Corresponding author: Eunsun Jung, Biospectrum Life Science Institute, 767, Sinsu-ro, Yongin-si, Gyeonggi 16827, Korea,  
E-mail: bioso@biospectrum.com

© 2026 The Korean Society of Food Science and Nutrition.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

노화가 진행된다면 히알루론산 합성 또한 감소하며, 이는 피부 건조, 잔주름, 탄력 저하 등의 문제를 초래한다(Papakonstantinou 등, 2012). 이에 따라 히알루론산 생합성을 촉진할 수 있는 기능성 소재의 개발은 피부 노화 예방을 위한 또 다른 핵심 과제로 여겨지고 있다.

최근 연구에 따르면 피부는 외부 자극뿐만 아니라 심리적·내부 생리적 스트레스에도 민감하게 반응하는 조직으로 알려져 있으며, 특히 국소적인 cortisol 농도 증가는 피부 노화와 염증 반응을 유도하는 중요한 요인으로 작용한다(Choe 등, 2018). Cortisol은 대표적인 스트레스 호르몬으로 글루코코르티코이드 수용체(glucocorticoid receptor, GR) 매개 전사 조절을 통해 피부 장벽 기능 약화와 염증 반응을 촉진해 피부 손상과 노화를 유발할 수 있다(Choe 등, 2018; Tiganescu 등, 2013). 피부 내에서 cortisol의 국소 활성화는 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1(11 $\beta$ -HSD1)에 의해 조절되며, 이 효소의 발현이 증가하면 국소 cortisol 농도 또한 상승하게 된다(Kim 등, 2018). 활성화된 cortisol-GR 축은 핵 내에서 표적 유전자 발현을 재편하여 세포외기질(extracellular matrix) 대사 불균형, 장벽 보습 인자 저하 등을 매개하며, 이는 피부 염증 및 노화를 가속한다(Tiganescu 등, 2013). 또한 노화, 자외선 등 환경 요인은 11 $\beta$ -HSD1 발현을 상향 조절해 이러한 변화를 강화하는 것으로 보고되어 왔다(Tiganescu 등, 2011, 2013, 2015). 따라서 11 $\beta$ -HSD1의 활성을 억제하는 것은 피부 스트레스 완화 및 노화 억제를 위한 유망한 전략으로 주목받고 있다.

한편, 피부 노화와 관련된 또 다른 중요한 내재적 요인으로 혈관 내피세포의 기능 저하가 있다(Jia 등, 2019). 정상적인 혈관 내피세포는 세포 간 접합 단백질을 통해 혈관 투과성을 조절하고, 진피 내 미세환경의 항상성을 유지하는 데 기여한다(Oakley와 Tharakan, 2014). 그러나 노화나 만성 염증 환경에서는 이러한 접합 단백질의 발현이 감소하여 투과성이 증가하고, 이에 따라 혈장 단백질이나 염증세포가 피부 조직으로 유입된다. 이러한 변화는 국소 염증과 부종을 유도하고, 더 나아가 섬유아세포 기능 저하 및 세포외기질의 붕괴를 초래하여 피부 노화를 가속한다(Reglero-Real 등, 2025). 따라서 진피 모세혈관의 안정성을 유지하는 것은 피부 노화를 예방하기 위한 다각적 전략 중 하나로 간주하고 있다.

최근 다양한 피부 노화 경로를 동시에 조절할 수 있는 기능성 소재를 탐색하는 과정에서 해양 유래 성분에 관한 관심이 증가하고 있으며, 그중 어류 콜라겐이 주목받고 있다(Coppola 등, 2020). 어류 유래 콜라겐은 해양 생물의 껍질이나 비늘 등에서 추출되며, 일반적으로 3~6 kDa의 낮은 분자량 펩타이드 형태로 가공될 수 있어, 소화 및 흡수가 용이한 특성을 가진다(Chai 등, 2010). 또한 포유류 유래 콜라겐에 비해 비교적 병원체 전염 우려가 낮고, 환경적·윤리적 측면에서도 장점이 있다(Geahchan 등, 2022). 이러한

특성 덕분에 어류 콜라겐은 건강기능식품, 의약품, 화장품 등 다양한 분야에서 응용 가능성이 지속적으로 확대되고 있으며, 기능성 원료로의 활용도를 높이기 위한 과학적 효능 평가가 요구되고 있다(Subhan 등, 2021). 더불어 어류 유래 콜라겐은 식품으로 섭취되는 기능성 원료로도 널리 사용되며, 무작위 대조시험(Randomized Controlled Trial, RCT)을 통합한 체계적 문헌 고찰과 메타분석에서 피부 보습·탄력·주름 지표의 유의한 개선이 일관되게 보고되어 왔다(de Miranda 등, 2021; Pu 등, 2023). 이러한 임상 근거는 식이 섭취가 피부 건강지표에 영향을 미칠 수 있음을 시사하며, 이를 설명할 전임상 수준의 기전 근거가 필요한 실정이다.

가수분해 저분자 어류 콜라겐(low molecular weight hydrolyzed fish collagen, LMW-HFC)은 건강기능식품 원료로 제조·유통되고 있으며, 효소 처리로 저분자 펩타이드화되어 상대적으로 높은 생체이용률과 생리활성 잠재력을 갖는다. 기존 연구에서는 LMW-HFC가 콜라겐 합성 촉진 및 보습 개선에 기여할 수 있음이 보고되었으나, 피부 노화와 관련된 복합적인 생물학적 경로, 즉 콜라겐 분해 억제, 히알루론산 합성 촉진, 스트레스 반응 억제 및 미세혈관 안정화 등에 대한 LMW-HFC의 통합적인 효능 평가와 그 기전 규명은 아직 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 LMW-HFC가 콜라겐 대사, 보습, 스트레스 반응 억제 및 미세혈관 안정성 등 피부 노화 관련 다양한 생물학적 경로에 미치는 영향을 전임상 수준에서 종합적으로 분석함으로써, 식품 유래 기능성 성분으로의 경구 섭취 및 국소 도포 적용 가능성을 뒷받침하는 기초 근거를 제시하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 가수분해 저분자 어류 콜라겐의 제조

본 연구에 사용된 저분자 어류 콜라겐은 효소 처리를 통한 저분자화 과정을 거쳐 제조되었다. 어류 콜라겐(Hainan Zhongxin Chemical Co., Ltd.)을 20% 농도로 증류수에 교반해 용해하고, 0.2%의 단백질 분해 효소(Protamex, Novozymes A/S)를 처리하여 60°C에서 4시간 동안 반응시켰다. 효소 반응이 완료된 용액은 90°C에서 30분간 가열하여 효소를 불활성화한 후, 300 mesh 체(약 50  $\mu$ m)를 사용하여 여과하고, 여과액을 동결 건조하여 LMW-HFC를 제조하였다.

### 가수분해 어류 콜라겐의 분자량 분석

LMW-HFC의 분자량 분포는 크기 배제 크로마토그래피(size exclusion chromatography)를 이용해 분석하였다. 분석은 Waters사의 HPLC 시스템(Waters 2695 Separations Module, Waters 2996 Photodiode Array Detector)과 Biosep SEC-s2000(300×7.8 mm; Phenomenex) 컬럼을 장착하여 수행하였다. 이동상은 0.1% 트리플루오로아세트산과 아세트나이트릴을 55:45(v/v) 비율로 혼합하여 사

용하였고, 유속은 0.8 mL/min으로 설정하였다. UV 검출은 215 nm 파장에서 수행하였다. 분자량을 파악하기 위해 insulin(5,734 Da, Sigma-Aldrich), bradykinin acetate salt (1,060 Da, Sigma-Aldrich) 그리고 tripeptide-29(H-Gly-Pro-Hyp-OH, 285 Da, MedChemExpress)를 혼합한 표준물질을 비교·분석용으로 사용하였다.

### 세포 배양

인간 피부 유래 미세혈관 내피세포주인 human dermal microvascular endothelial cell(HMEC-1, CRL-3243<sup>TM</sup>, ATCC)은 10% fetal bovine serum(FBS; Welgene Inc.), 10 ng/mL epidermal growth factor(R&D Systems), 10 mM glutamine(Thermo Fisher Scientific), 1 µg/mL hydrocortisone(Sigma-Aldrich), 1% penicillin-streptomycin(Welgene Inc.)이 포함된 MCDB131(Thermo Fisher Scientific) 배지에서 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건으로 배양하였다. 인간 피부 유래 섬유아세포인 human dermal fibroblasts(HDFs, PCS-201-010<sup>TM</sup>, ATCC)와 인간 각질형성세포주인 HaCaT(CLS Cell Lines Service GmbH)는 10% FBS, 1% penicillin-streptomycin이 포함된 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM, Welgene Inc.) 배지에서 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건으로 배양하였다. HaCaT-HSD11B1는 HaCaT에 11β-HSD1 promoter-luciferase reporter vector를 형질 전환한 세포주로 10% FBS, 1% penicillin-streptomycin과 puromycin(Thermo Fisher Scientific)이 포함된 DMEM 배지에서 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건으로 배양하였다.

### 세포 생존율 측정

세포 생존율은 MTT{3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, USB Corp.} assay를 이용하여 측정하였다. 사용된 세포를 실험 조건에 맞게 well 플레이트에 분주하고 24시간 동안 안정화한 후 실험에 사용하였다. 이후 LMW-HFC를 10, 50, 100 µg/mL 농도로 각 시간 조건에 맞게 처리하여 배양하였다. 배양 후 배지를 제거하고, MTT 시약(1 mg/mL)을 각 well에 첨가한 후 37°C에서 3시간 동안 배양하였다. 생성된 불용성 포마잔(formazan)은 dimethyl sulfoxide로 용해하였다. 세포 생존율은 microplate reader를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하고, 대조군 대비 백분율로 환산하여 수치화하였다.

### 히알루론산 측정

HaCaT를 24 well 플레이트에 well당  $1.0 \times 10^5$ 개의 세포 수로 분주하여 배양하였다. HaCaT이 웰에 80% 밀도로 증식했을 때, FBS가 포함되지 않은 DMEM 배지로 교체한 뒤, 세포에 1 µM의 retinoic acid와 50, 100 µg/mL 농도의 LMW-HFC를 각각 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 세포 배양액을 1,000×g에서 20분간 원심분리 하여 상등액을

회수하였다. 히알루론산은 Hyaluronan Enzyme-Linked Immunosorbent Assay kit(K-1200, Echelon Biosciences)을 사용하여 정량하였고, microplate reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하여 그 양을 수치화하였다.

### MMP-1 측정

HDFs를 24 well 플레이트에 well당  $2 \times 10^4$ 개의 세포 수로 분주하여 24시간 동안 배양하였다. 이후 FBS가 포함되지 않은 DMEM 배지로 교체한 뒤, 1, 10, 50 µg/mL 농도의 LMW-HFC와 10 µM epigallocatechin gallate(EGCG; Sigma-Aldrich)를 1 µM tumor necrosis factor-α(TNF-α; PeproTech)와 함께 처리한 뒤 72시간 동안 배양하였다. 배양 후 세포 배양액을 수거하여 2,500×g에서 10분간 4°C 조건에서 원심분리한 뒤 상등액을 회수하였다. MMP-1 생성량은 Human Pro-MMP-1 ELISA kit(MMP-1 ELISA, R&D Systems)을 사용하여 정량하였고, microplate reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하여 그 양을 수치화하였다.

### 혈관내피세포 투과성 시험

24 well 플레이트 하단에 MCDB131 배지를 분주하고, 상단의 transwell insert(6.5 mm, 0.4 µm pore, SPLInsert<sup>TM</sup> Hanging, SPL Life Sciences)에는 MCDB131 배지와 함께  $1 \times 10^6$  세포 수의 HMEC-1을 접종하였다. 세포는 3일간 배양하여 세포 밀도가 100%에 도달할 때까지 증식하였다. 이후 상단의 transwell insert에 TNF-α(200 ng/mL)와 시험 물질을 동시에 처리하고 24시간 동안 배양하였다. 배양 후, transwell insert의 배지를 제거하고 streptavidin-horseradish peroxidase(HRP; Thermo Fisher Scientific)가 혼합한 FBS가 포함되지 않은 배지를 상단의 transwell insert에 분주하였다. 새로운 24 well 플레이트의 하단에 FBS가 포함되지 않은 배지를 넣은 뒤 transwell insert를 옮기고 37°C에서 30분간 반응하였다. 반응 후 하단의 배지를 수거하여 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine(TMB, BioLegend) 기질 용액과 반응시킨 다음, microplate reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하여 수치화하였다.

### 11β-HSD1 활성 및 cortisol 측정

11β-HSD1 활성은 11β-HSD1 luciferase assay를 이용한 프로모터(promoter) 활성화를 통해 측정하였다. 11β-HSD1 promoter luciferase gene이 형질 도입된 세포주(HaCaT-HSD11B1)에 LMW-HFC와 BVT.2733(Sigma-Aldrich)을 1시간 동안 전처리한 후 cortisone(Sigma-Aldrich)을 1 µM 농도로 처리하여 16시간 동안 배양하였다. 조건별로 처리한 세포 배양 상등액을 회수하여 Gaussia Luciferase Flash Assay Kit(Thermo Fisher Scientific)을 이용하여 11β-HSD1 프로모터의 활성화 정도를 Luminometer(Infinite<sup>®</sup> 200 PRO, Tecan)로 측정하였다. 동일한 상

등액에서 cortisol 농도를 Cortisol Parameter Assay Kit (R&D Systems)으로 정량하였고, microplate reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하여 수치화하였다.

### HSD11B1 mRNA 측정

HSD11B1 mRNA 발현은 실시간 중합효소 연쇄반응(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)을 통해 측정하였다. HaCaT-HSD11B1에 LMW-HFC와 BVT.2733을 1시간 동안 전처리한 후 cortisol (Sigma-Aldrich)을 1  $\mu$ M 농도로 처리하여 12시간 동안 배양하였다. 조건별로 처리한 세포를 TRIzol reagent(Invitrogen)를 이용하여 총 RNA를 추출한 뒤 AccuPower<sup>®</sup> RT PreMix(Bioneer)를 이용하여 cDNA를 합성하였다. 이후 실시간 중합효소 연쇄반응을 통해 HSD11B1 mRNA 발현 정도를 측정하였다. 실험에 사용한 프라이머 서열은 Table 1에 나타내었다.

### 통계분석

모든 실험은 3회 이상 반복 수행했으며, 측정값은 평균±표준편차(mean±standard deviation)로 나타내었다. 그룹 간 차이는 일원분산분석(one-way ANOVA)으로 검정하였고, 유의한 차이가 확인된 경우에는 Bonferroni 사후검정(Post-Hoc Test)을 적용하였다. 통계 검정의 유의수준은  $P<0.05$ 로 하였으며, 분석에는 SPSS(IBM Corp.)를 사용하였다.

## 결과 및 고찰

### LMW-HFC의 분자량 분석

콜라겐은 일반적으로 약 300 kDa의 고분자 단백질로, 체내 흡수를 위해서는 효소 처리 또는 산 가수분해와 같은 전처리 과정을 통해 저분자 펩타이드 형태로 분해되어야 한다.

**Table 1.** Primer sequences

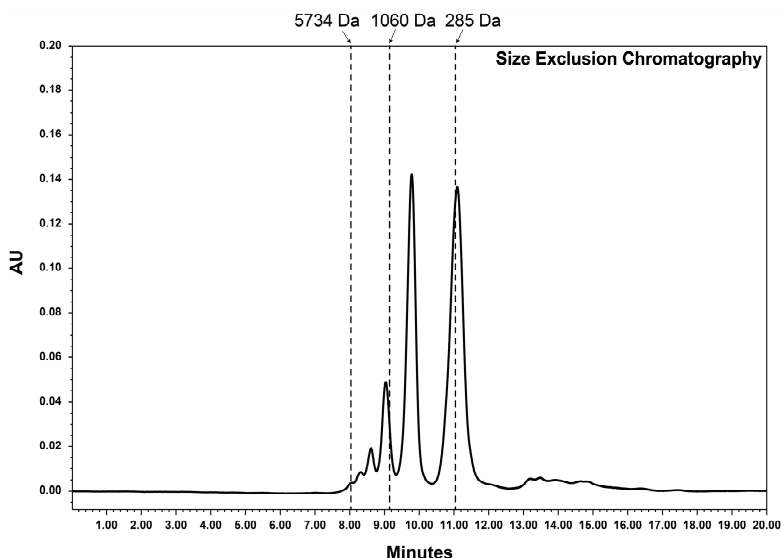
Gene	Primer	Sequence (5'→3')
HSD11B1	Forward	CCAGAGATGCTCCAAGGAAAG
	Reverse	TGGTGCCAGCAATGTAGTGT
GAPDH	Forward	TGCACCACCAACTGCTTAGC
	Reverse	GGCATGGACTGTGGTCATGAG

선행 연구에 따르면, 1~3 kDa 이하의 저분자 콜라겐 펩타이드가 체내 흡수율이 높고, 항산화 활성, 멜라닌 생합성 조절 등 다양한 생리활성을 나타낼 수 있음이 보고된 바 있다 (Yang과 Hong, 2014; Zhuang과 Sun, 2011).

본 연구에서는 상업적으로 판매되는 어류 유래 콜라겐을 단백질 분해 효소 처리 공정을 통해 저분자화했으며, 이를 LMW-HFC로 명명하였다. LMW-HFC의 분자량 분포는 insulin(5,734 Da), bradykinin acetate(1,060 Da), tripeptide-29(285 Da)를 표준물질로 사용하여 크기 배제 크로마토그래피를 통해 분석하였다. 그 결과, LMW-HFC는 대부분 1,000 Da 이하의 분자량을 가지는 펩타이드로 구성된 것으로 확인되었다(Fig. 1). 이와 같은 분자량 특성은 기존 문헌에서 보고된 저분자 콜라겐 펩타이드의 우수한 체내 흡수율 및 생리활성 가능성과 비교해 볼 때, 본 연구에서 제조한 LMW-HFC가 기능성 소재로의 활용 가능성을 지니고 있음을 보여준다. 이에 따라 본 연구에서는 분자량이 확인된 LMW-HFC를 이용하여 다양한 생리활성 효능을 평가하였다.

### LMW-HFC의 히알루론산 생성 촉진 효과

히알루론산은 피부의 표피와 진피에 풍부하게 존재하는 고분자 다당류로, 탁월한 수분 유지 능력을 통해 피부 보습과 탄력 유지에 중요한 역할을 한다. 히알루론산은 피부 세포외기질 내에서 다량의 수분을 결합하여 저장함으로써 피부를 촉촉하고 탄력 있게 유지하며, 피부 장벽 기능을 강화



**Fig. 1.** Size exclusion chromatography profile of LMW-HFC compared with molecular weight standards: insulin (5,734 Da), bradykinin acetate salt (1,060 Da), and tripeptide-29 (285 Da).

하는 데 기여한다(Bravo 등, 2022).

노화와 자외선, 환경 스트레스 등에 의해 피부 내 히알루론산 함량이 감소하면 피부 건조, 잔주름, 탄력 저하가 발생하며, 이에 따라 피부 노화가 촉진된다(Papakonstantinou 등, 2012). 특히 히알루론산의 감소는 피부 표면의 수분 증발 증가와 함께 피부 세포 간 연결 기능 저하로 이어져 피부 장벽 약화 및 염증 반응의 증가와도 연관된다(Chylińska와 Maciejczyk, 2025). 따라서 피부 노화 예방 및 개선을 위해 피부 세포가 직접 생성하는 히알루론산의 양을 유지하거나 증가시키는 것은 매우 중요한 항노화 전략 중 하나로 간주된다.

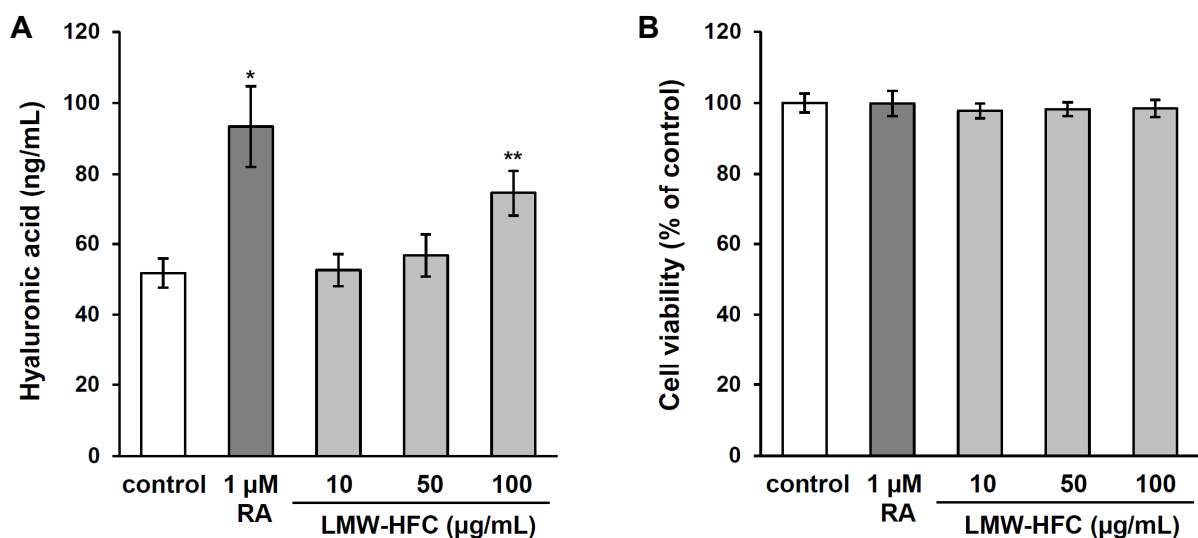
본 연구에서는 LMW-HFC가 피부 세포의 HA 생성에 미치는 영향을 평가했으며, 양성대조군으로는 HA 생성 촉진 효능이 보고된 retinoic acid를 사용하였다. 실험 결과, 무처리 대조군의 HA 생성량은  $51.78 \pm 4.11$  ng/mL로 확인되었으며, LMW-HFC를 각각 10, 50, 100  $\mu$ g/mL로 처리한 군에서는 각각  $52.66 \pm 4.55$ ,  $56.77 \pm 5.98$ ,  $74.50 \pm 6.48$  ng/mL로 측정되었다(Fig. 2A). 이 중 100  $\mu$ g/mL 처리군에서 통계적으로 유의한 수준의 증가가 관찰되었으며, 10  $\mu$ g/mL 처리군에서는 무처리 대조군과 비교하여 큰 차이를 나타내지 않았고, 50  $\mu$ g/mL 처리군에서 증가 경향은 보였으나 통계적 유의성은 확인되지 않았다( $P > 0.05$ ). Retinoic acid 1  $\mu$ M 처리군에서는  $93.41 \pm 11.33$  ng/mL의 HA 생성량이 측정되어 가장 강한 촉진 효과를 보였다( $P < 0.01$ ). LMW-HFC는 고농도에서 유의한 HA 생성 촉진 효과를 나타냄으로써 일정 수준 이상의 생리활성을 보유함을 확인할 수 있었다. 모든 시험 조건에서 세포독성은 나타나지 않았다(Fig. 2B). 이러한 결과는 LMW-HFC가 피부 세포에서 HA 생성을 유도함으로써 피부의 수분 유지력과 장벽 기능을 개선할 수

있음을 보여주며, 이는 항노화 효능을 기대할 수 있는 기능성 소재로 활용할 수 있음을 시사한다.

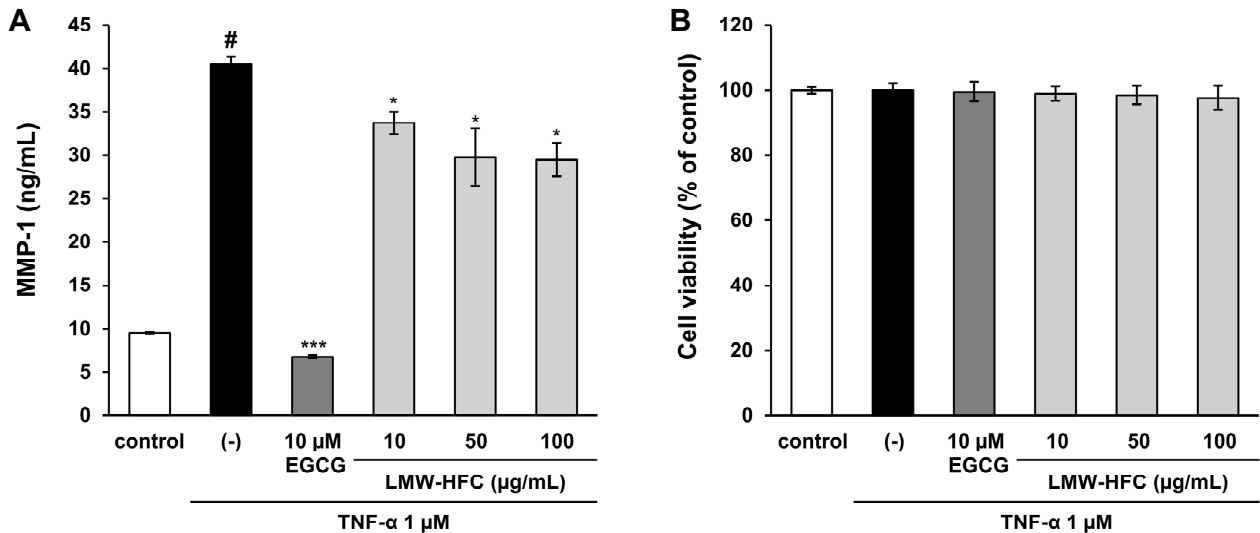
#### LMW-HFC의 MMP-1 생성 억제 효과

피부 노화는 표피와 진피의 구조적 변화 및 기능 저하를 동반하는 복합적인 생물학적 과정으로, 특히 진피층의 세포 외기질 손상이 대표적인 특징으로 나타난다(Quan과 Fisher, 2015). 세포외기질의 주요 구성 성분인 콜라겐은 피부의 탄력과 구조적 안정성을 유지하는 데 중요한 역할을 하며, 이 중 제1형 콜라겐(type I collagen)은 진피 콜라겐의 대부분을 차지한다(Shin 등, 2019). 하지만 노화가 진행되면 콜라겐의 합성은 감소하고, 이를 분해하는 효소인 MMPs의 활성이 증가하게 된다. 특히 MMP-1은 제1형 및 제3형 콜라겐을 직접 절단하는 효소로, 진피 세포외기질의 구조적 붕괴와 주름 형성의 직접적인 원인으로 작용한다(Brennan 등, 2003). MMP-1의 과발현은 노화 자체뿐 아니라 자외선(UV), 활성산소종, 염증성 사이토카인(TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  등)과 같은 외부 자극에 의해 촉진되며, 이에 따라 광노화 및 만성 염증성 피부 변화가 유발된다(Ågren 등, 2015; Quan 등, 2009). 따라서 MMP-1의 발현을 조절하거나 활성을 억제하는 전략은 피부 노화 예방 및 개선을 위한 핵심적인 접근법으로 간주한다. 실제로 최근의 기능성 화장품 소재 연구에서는 MMP-1의 억제 효능을 항노화 효능의 중요한 지표로 활용하고 있으며, 다양한 생리활성 물질에 대한 평가 지표로도 널리 사용되고 있다.

본 연구에서는 TNF- $\alpha$ 에 의해 유도된 MMP-1 생성에 대한 LMW-HFC의 억제 효능을 평가했으며, 양성대조군으로는 MMP-1 생성 억제 활성이 보고된 EGCG를 사용하였다. TNF- $\alpha$  단독 처리군의 MMP-1 생성량은  $40.5 \pm 0.8$  ng/mL



**Fig. 2.** LMW-HFC increases hyaluronic acid expression in HaCaT. (A) After 24 h treatment of 50, 100  $\mu$ g/mL LMW-HFC, HaCaT cultured media was collected and the amount of hyaluronic acid was analyzed by ELISA. (B) Cell viability was measured using the MTT assay. Retinoic acid (1  $\mu$ M) was used as a positive control. All results are shown as the mean $\pm$ SD of triplicate data. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs. untreated control. RA, retinoic acid; LMW-HFC, low molecular weight hydrolyzed fish collagen.



**Fig. 3.** LMW-HFC inhibits TNF- $\alpha$ -induced MMP-1 production in HDFs. (A) MMP-1 production was evaluated in HDFs treated with TNF- $\alpha$  and LMW-HFC for 72 h. Culture supernatants were collected and MMP-1 levels were quantified using an ELISA kit by measuring absorbance at 450 nm. (B) Cell viability was measured using the MTT assay. All results are shown as the mean $\pm$ SD of triplicate data. # $P$ <0.001 vs. TNF- $\alpha$ -untreated control; \* $P$ <0.05, \*\*\* $P$ <0.001 vs. TNF- $\alpha$ -treated control(-).

로 확인되었으며, LMW-HFC를 각각 10, 50, 100  $\mu$ g/mL로 처리한 실험군에서는  $33.70 \pm 1.30$ ,  $29.75 \pm 3.30$ ,  $29.48 \pm 1.93$  ng/mL로 나타나, 처리 농도 증가에 따라 MMP-1 생성이 유의하게 감소하는 경향이 관찰되었다(Fig. 3A,  $P$ <0.05). 한편, EGCG 10  $\mu$ M 처리군은  $6.78 \pm 0.19$  ng/mL의 MMP-1 생성량이 측정되어 가장 강한 억제 효능을 나타내었다( $P$ <0.001). 모든 시험 조건에서 세포독성은 나타나지 않았다(Fig. 3B). LMW-HFC의 억제 효과는 EGCG에 비해 낮았지만, 50  $\mu$ g/mL 이상의 고농도 처리에서는 통계적으로 유의한 수준의 억제 효과가 확인되었고, 전반적으로 농도 증가에 따른 일관적 억제 양상이 관찰되었다.

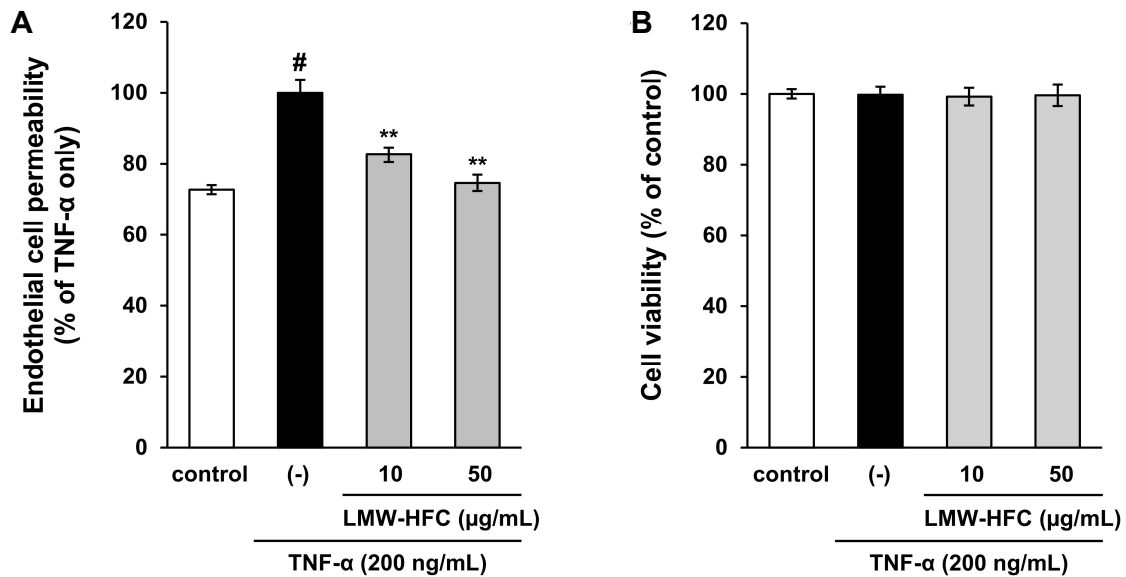
이러한 결과는 LMW-HFC가 TNF- $\alpha$ 에 의해 유도되는 MMP-1의 생성을 효과적으로 억제함을 보여준다. 이는 콜라겐 분해 감소로 이어져 세포외기질의 구조적 안정성을 유지할 수 있음을 나타낸다. 따라서 LMW-HFC는 피부 노화의 예방 및 개선을 위한 기능성 소재로 활용될 가능성을 보여준다.

#### LMW-HFC의 혈관내피세포의 투과성 완화효과

노화는 혈관내피세포 기능의 점진적인 저하와 함께 피부 미세혈관계의 구조적·기능적 변화를 초래하며, 이는 피부 조직 내 항상성 유지에 핵심적인 역할을 하는 혈관 장벽 투과성 증가로 이어진다(Bentov와 Reed, 2015). 혈관내피세포는 피부 미세혈관의 장벽 역할을 하며, 이들의 기능적 안정성은 조직 내 산소 및 영양 공급뿐만 아니라 염증 조절에도 필수적이다(Yuan과 Rigor, 2010). 노화 과정에서 혈관내피세포 접합 단백질의 발현 감소 및 기능 저하는 혈관 투과성 증가를 유발하며, 그 결과 혈장 단백질과 염증세포의 피부 조직 침윤이 촉진되어 국소 염증 및 부종을 발생시킨다.

이러한 병리학적 변화는 피부 진피층 섬유아세포의 기능 저하와 세포외기질 손상을 유발하며, 피부 탄력 저하와 주름 형성 등 노화 관련 피부 변화를 가속한다(Krouwer 등, 2012; Ono 등, 2017). 특히, 노화성 염증 환경에서 주요하게 증가하는 전염증성 사이토카인인 TNF- $\alpha$ 는 내피세포의 액틴 세포골격의 재구성을 촉진하고 밀착연접(tight junction) 단백질의 파괴를 유도하여 혈관내피세포의 장벽 기능을 급격히 손상하는 것으로 알려져 있다(Aveleira 등, 2010; Xu 등, 2015). 따라서 TNF- $\alpha$ 로 유도된 혈관내피세포 투과성 증가 모델은 노화로 인한 염증성 환경에서 발생하는 혈관 장벽 기능 상실을 *in vitro*에서 재현하고, 이를 개선할 물질의 효능을 평가하기 위한 가장 적절하고 표준화된 실험 시스템을 제공한다(Yang 등, 2018). 혈관내피세포 기능 저하는 피부 노화의 중요한 원인 중 하나로 인식되고 있으며, 이의 조절은 피부 노화 예방 및 개선에 있어 중요한 연구 대상이다(Donato 등, 2015).

본 연구에서는 TNF- $\alpha$ 로 유도된 혈관내피세포 투과성 증가 모델을 활용하여, LMW-HFC가 혈관내피세포 장벽의 기능 회복 및 투과성 완화에 미치는 영향을 평가하였다. 본 실험은 TNF- $\alpha$  자극 대비 시료의 상대적 장벽 보호 효과를 탐색적으로 평가한 설계로, 약리학적 양성대조군은 포함하지 않았다. LMW-HFC를 각각 10, 50  $\mu$ g/mL 농도로 처리한 결과, 혈관내피세포의 투과성이 각각  $17.37 \pm 2.14\%$ ,  $25.31 \pm 2.30\%$ 로 감소하여 처리 농도에 따른 유의적인 억제 경향이 관찰되었다(Fig. 4A,  $P$ <0.01). 모든 시험 조건에서 세포독성은 나타나지 않았다(Fig. 4B). 이러한 결과는 LMW-HFC가 염증 자극에 의한 내피 장벽 기능 변화와 연관될 가능성을 시사하며, 세포 간 접합 단백질과 세포골격 안정화와 관련된 수 있음을 뒷받침한다. 따라서 LMW-HFC는 TNF-



**Fig. 4.** LMW-HFC reduces TNF- $\alpha$ -induced endothelial permeability in HMEC-1. (A) Endothelial permeability was assessed using a transwell system by measuring the passage of streptavidin-HRP from the upper to the lower chamber after 24 h treatment with TNF- $\alpha$ . HRP activity in the lower chamber was quantified using TMB substrate and absorbance at 450 nm. (B) Cell viability was measured using the MTT assay. All results are shown as the mean $\pm$ SD of triplicate data. <sup>#</sup> $P$ <0.001 vs. TNF- $\alpha$ -untreated control, <sup>\*\*</sup> $P$ <0.01 vs. TNF- $\alpha$ -treated control(-).

$\alpha$ 로 유도된 내피세포 투과성 증가를 억제하여, 피부 염증과 국소 부종뿐만 아니라 노화에 따른 미세혈관 기능 저하로 인한 주름과 탄력 저하와 같은 변화를 완화할 수 있는 후보 물질로 평가될 수 있다.

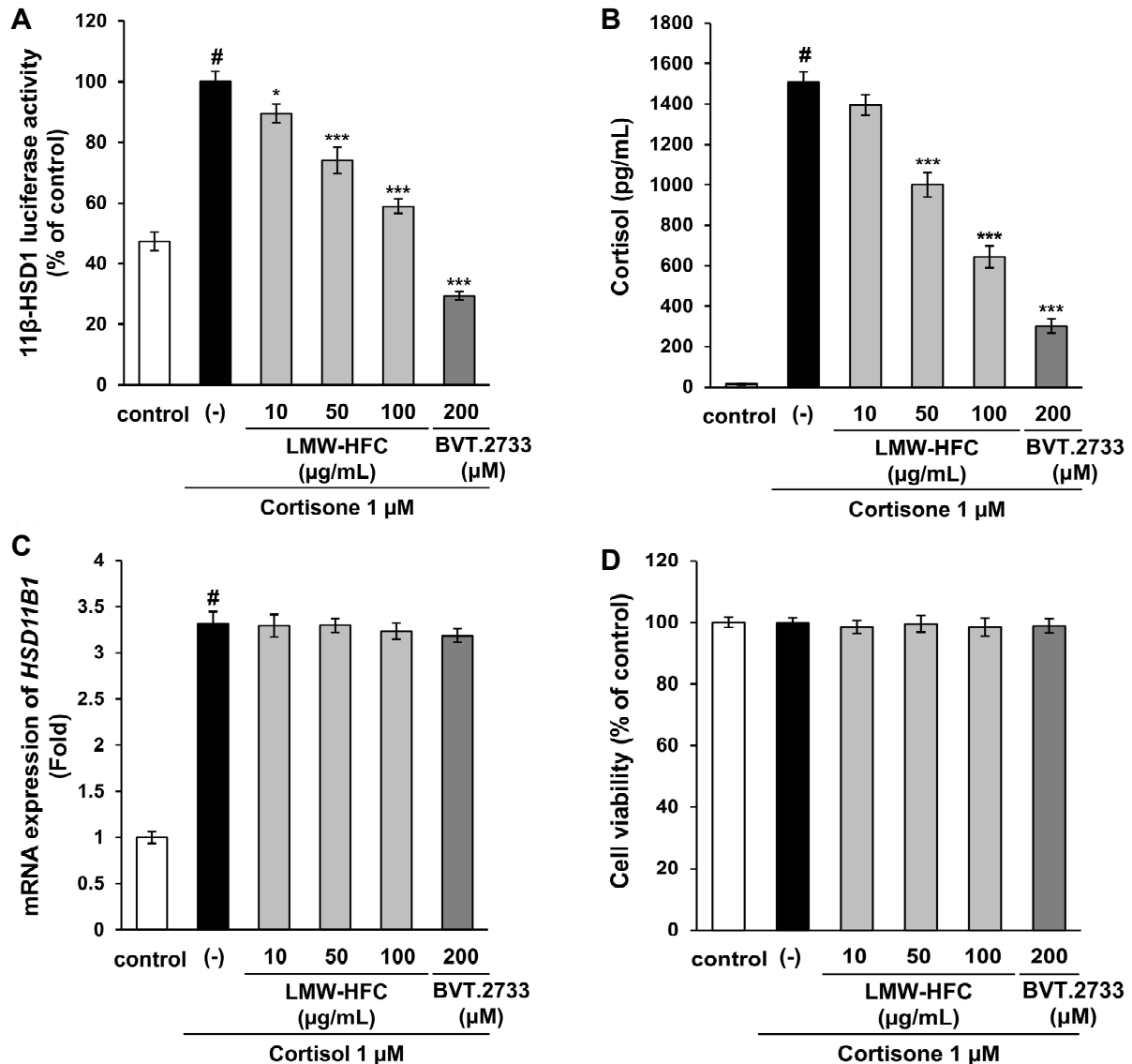
#### LMW-HFC의 스트레스 호르몬 전환 효소 억제 활성

피부는 외부 자극뿐만 아니라 내적인 생리적 스트레스에도 민감하게 반응하는 조직이다. 최근 연구들은 이러한 반응과 관련된 국소 cortisol의 조절 메커니즘이 피부 노화 및 염증 반응과 밀접하게 연관되어 있음을 밝히고 있다(Choe 등, 2018). Cortisol은 대표적인 스트레스 호르몬으로, 시상하부-뇌하수체-부신(hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA) 축을 통해 전신적으로 생성될 뿐만 아니라, 피부 내에서도 독립적인 국소 HPA 축을 통해 그 농도가 조절된다(Slominski와 Wortsman, 2000). 특히, 피부에서는 11 $\beta$ -HSD1 효소가 비활성형 스테로이드인 cortisone을 활성형 cortisol로 전환하여 국소 cortisol 농도에 직접적인 영향을 미친다(Kim 등, 2021). 이렇게 생성된 cortisol은 세포 내 글루코코르티코이드 수용체(glucocorticoid receptor, GR)를 통해 *HSD11B1* 발현을 조절할 수 있음이 보고되었다(Yang 등, 2007). 정상적인 생리 조건에서 11 $\beta$ -HSD1에 의한 cortisol 조절은 피부 항상성 유지에 기여한다. 그러나 노화 또는 만성 염증 상태에서는 11 $\beta$ -HSD1의 발현이 과도하게 증가하여 cortisol 축적을 유도할 수 있다(Kim 등, 2021). 이는 피부 장벽 손상, 염증 반응 촉진, 진피 세포 기능 저하 등 다양한 병리적 변화를 유발한다(Kim 등, 2021). 결과적으로 이러한 변화는 피부의 구조적 안정성과 재생 능력

을 약화하고, 상처 치유 지연이나 세포외기질 손상을 통해 피부 노화를 가속하는 요인이 된다. 더불어, 자외선 노출, 산화 스트레스, 외부 글루코코르티코이드 과다와 같은 다양한 환경적 요인 또한 11 $\beta$ -HSD1의 발현을 촉진하는 것으로 보고되고 있다(Tiganescu 등, 2011, 2013, 2015).

본 연구에서는 피부 국소 조직에서 비활성형 cortisone을 활성형 cortisol로 전환하는 11 $\beta$ -HSD1 매개 국소 cortisol 활성화 경로에 초점을 맞추고, HSD11B1 promoter-luciferase reporter가 도입된 HaCaT-HSD11B1 세포주를 이용하여 실험을 수행하였다. 이 모델에서 cortisone 처리로 유도된 HSD11B1 promoter 활성화에 대한 LMW-HFC의 억제 효과와, 11 $\beta$ -HSD1 활성화에 따른 cortisol 생성에서 LMW-HFC의 효소활성 억제 효과를 확인하였다(Fig. 5). Cortisone 처리로 11 $\beta$ -HSD1 활성화를 유도하였고, 양성대조군은 11 $\beta$ -HSD1 선택적 저해제인 BVT.2733을 사용하였다. LMW-HFC는 처리 농도에 따라 두 지표를 모두 농도 의존적으로 억제하는 경향을 보였다. 구체적으로 LMW-HFC를 각각 10, 50, 100  $\mu$ g/mL 농도로 처리한 결과, cortisone에 의해 유도된 11 $\beta$ -HSD1 promoter 전사 활성이 각각 10.43 $\pm$ 3.10%, 25.87 $\pm$ 4.32%, 41.11 $\pm$ 2.39%로 감소하였고( $P$ <0.05,  $P$ <0.001), 양성대조군인 BVT.2733 200  $\mu$ M 처리군은 70.49 $\pm$ 1.29%의 promoter 신호 감소 효과를 나타내었다(Fig. 5A,  $P$ <0.001). 또한, cortisone 단독 처리군의 cortisol 생성량은 1,507.56 $\pm$ 53.25 pg/mL로 확인되었으며, LMW-HFC를 각각 10, 50, 100  $\mu$ g/mL로 처리한 실험군에서는 1,395.12 $\pm$ 49.83, 1,000.47 $\pm$ 60.60, 643.83 $\pm$ 53.06 pg/mL로 나타나, 처리 농도 증가에 따라 cortisol





**Fig. 5.** LMW-HFC inhibits 11β-HSD1 promoter activity in HaCaT-HSD11B1. HaCaT-HSD11B1 cells were pretreated with LMW-HFC for 1 h and then incubated with cortisone for 16 h. (A) The activation level of the 11β-HSD1 promoter was confirmed by measuring luciferase activity. (B) Cortisol production was analyzed by ELISA. (C) *HSD11B1* mRNA was measured by qRT-PCR. (D) Cell viability was measured using the MTT assay. All results are shown as the mean±SD of triplicate data. # $P<0.001$  vs. cortisone-untreated control; \* $P<0.05$ , \*\*\* $P<0.001$  vs. cortisone-treated control(-).

생성이 유의하게 감소하는 경향이 관찰되었다(Fig. 5B,  $P<0.001$ ). 한편 BVT.2733 200 μM 처리군은  $301.86\pm34.87$  pg/mL의 cortisol 생성량이 측정되어 가장 강한 억제 효과를 나타내었다( $P<0.001$ ). 모든 시험 조건에서 세포독성은 나타나지 않았다(Fig. 5D).

이러한 결과는 cortisone 처리 시 세포 내에서 cortisol로 전환되는 과정이 재현되며, 생성된 cortisol은 GR을 통해 *HSD11B1* 발현을 촉진하는 것을 보여준다. 이렇게 증가한 11β-HSD1은 cortisol 생성을 가속하여 HSD11B1 발현을 더욱 높이는 양성 피드백 루프(positive feedback loop)를 형성하게 된다. 이 과정에 있어 LMW-HFC는 *HSD11B1* promoter-reporter 활성과 cortisol 생성을 억제하는 결과

를 나타내었다. 그러나 이들 결과만으로는 LMW-HFC가 이 과정의 어느 단계에 작용하는지를 명확히 규명하기 어렵다. 그러므로 LMW-HFC의 작용 단계를 규명하기 위해 외인성 cortisol을 처리하여 GR 활성 하위 단계인 *HSD11B1* 전사를 유도하였고, LMW-HFC가 이를 억제하는지를 확인하였다. Cortisol 처리로 *HSD11B1* mRNA 발현은 촉진되었으나, LMW-HFC 처리에 따른 mRNA 발현 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 5C). BVT.2733 역시 *HSD11B1* mRNA 발현에는 유의하게 영향을 나타내지 않았다. 이는 LMW-HFC가 *HSD11B1* 유전자의 전사를 직접 억제하기보다는 11β-HSD1 효소활성을 억제하여 cortisone이 cortisol로 전환되는 상류 경로를 차단한다는 것을 시사한다. 이에 따라 corti-



sol 농도가 감소했으며, 이에 따라 GR 매개 전사 반응이 억제되어 HSD11B1 promoter-reporter 신호의 감소로 이어진 것으로 해석된다.

이러한 결과는 LMW-HFC가 11 $\beta$ -HSD1 의존적 cortisol 활성화를 억제할 수 있음을 시사하며, 이를 통해 피부 내 과도한 cortisol 생성을 조절하는 데 기여할 수 있음을 보여준다. 따라서 LMW-HFC는 피부 내 과도한 cortisol 생성을 억제하여 스트레스 유래 피부 노화 반응을 완화할 수 있는 기능성 소재로의 가능성을 제시한다.

## 요 약

본 연구는 천연 유래 소재인 가수분해 저분자 어류 콜라겐(LMW-HFC)의 피부 항노화 효능을 규명하고, 화장품 기능성 소재로 활용 가능성을 평가하기 위해 수행되었다. LMW-HFC는 노화 및 염증성 자극에 의해 증가하는 MMP-1의 생성을 효과적으로 억제하여 진피 내 콜라겐 분해를 완화하고, 관련 효소활성을 조절할 수 있음을 확인하였다. 또한, 피부 세포에서 히알루론산 생성을 유의하게 증가시켜 수분 유지력과 장벽 기능 개선에 기여할 가능성을 보여주었다. 아울러, 스트레스 호르몬의 활성화에 관여하는 11 $\beta$ -HSD1의 효소활성을 억제하여 피부 내 국소 스트레스 반응 조절에도 작용할 수 있음을 확인하였다. 이와 함께 노화에 따라 증가하는 혈관 내피세포의 투과성을 억제하는 효과가 관찰되어, 피부 미세환경의 안정성 유지에도 기여할 수 있음을 시사한다. 이처럼 본 연구에서 확인된 다양한 생리활성 효능들은 LMW-HFC가 피부 노화에 관여하는 여러 생물학적 경로에 다중적으로 작용할 가능성을 시사한다. 특히 LMW-HFC는 효소 가수분해 과정을 통해 얻은 식이성 저분자 펩타이드로 높은 생체이용률을 가지며, 이러한 특성은 경구 섭취 시 체내 흡수를 통한 피부 생리 개선 효과로도 확장될 수 있음을 시사한다. 다만, 본 연구는 *in vitro* 수준의 결과에 한정되어 있으므로 실제 피부 적용을 위해서는 체계적인 *in vivo* 및 임상 연구를 통한 검증이 필수적이다. 이러한 한계에도 불구하고, 본 연구의 *in vitro* 결과들은 LMW-HFC의 피부 항노화 효능을 평가하기 위한 전임상 기초 자료로 의의가 있다. 향후 연구에서는 전임상 및 임상 연구를 통해 도출된 결과를 바탕으로, LMW-HFC의 피부 건강 개선 및 항노화 기능성 소재로의 응용 가능성을 보다 명확히 평가함과 동시에, 식이성 펩타이드로 체내 작용 메커니즘과 피부 생리학적 효능 간의 연계성을 규명할 필요가 있다.

## REFERENCES

- Addor FAS. Beyond photoaging: Additional factors involved in the process of skin aging. Clin Cosmet Invest Dermatol. 2018. 11:437-443. <https://doi.org/10.2147/CCID.S177448>
- Ågren MS, Schnabel R, Christensen LH, et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$ -accelerated degradation of type I collagen in human skin is associated with elevated matrix metalloproteinase (MMP)-1 and MMP-3 ex vivo. Eur J Cell Biol. 2015. 94:12-21. <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2014.10.001>
- Aveleira CA, Lin CM, Abcouwer SF, et al. TNF- $\alpha$  signals through PKC $\zeta$ /NF- $\kappa$ B to alter the tight junction complex and increase retinal endothelial cell permeability. Diabetes. 2010. 59:2872-2882. <https://doi.org/10.2337/db09-1606>
- Bentov I, Reed MJ. The effect of aging on the cutaneous microvasculature. Microvasc Res. 2015. 100:25-31. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2015.04.004>
- Bravo B, Correia P, Gonçalves Junior JE, et al. Benefits of topical hyaluronic acid for skin quality and signs of skin aging: From literature review to clinical evidence. Dermatol Ther. 2022. 35:e15903. <https://doi.org/10.1111/dth.15903>
- Brennan M, Bhatti H, Nerusu KC, et al. Matrix metalloproteinase-1 is the major collagenolytic enzyme responsible for collagen damage in UV-irradiated human skin. Photochem Photobiol. 2003. 78:43-48. [https://doi.org/10.1562/0031-8655\(2003\)0780043MMITMC2.0.CO2](https://doi.org/10.1562/0031-8655(2003)0780043MMITMC2.0.CO2)
- Chai HJ, Li JH, Huang HN, et al. Effects of sizes and conformations of fish-scale collagen peptides on facial skin qualities and transdermal penetration efficiency. J Biomed Biotechnol. 2010. Article ID 757301. <https://doi.org/10.1155/2010/757301>
- Chen X, Yang C, Jiang G. Research progress on skin photoaging and oxidative stress. Adv Dermatol Allergol. 2021. 38:931-936. <https://doi.org/10.5114/ada.2021.112275>
- Choe SJ, Kim D, Kim EJ, et al. Psychological stress deteriorates skin barrier function by activating 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase 1 and the HPA axis. Sci Rep. 2018. 8:6334. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24653-z>
- Chylińska N, Maciejczyk M. Hyaluronic acid and skin: Its role in aging and wound-healing processes. Gels. 2025. 11:281. <https://doi.org/10.3390/gels11040281>
- Coppola D, Oliviero M, Vitale GA, et al. Marine collagen from alternative and sustainable sources: Extraction, processing and applications. Mar Drugs. 2020. 18:214. <https://doi.org/10.3390/md18040214>
- Donato AJ, Morgan RG, Walker AE, et al. Cellular and molecular biology of aging endothelial cells. J Mol Cell Cardiol. 2015. 89:122-135. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2015.01.021>
- de Miranda RB, Weimer P, Rossi RC. Effects of hydrolyzed collagen supplementation on skin aging: A systematic review and meta-analysis. Int J Dermatol. 2021. 60:1449-1461. <https://doi.org/10.1111/ijd.15518>
- Fisher GJ, Quan T, Purohit T, et al. Collagen fragmentation promotes oxidative stress and elevates matrix metalloproteinase-1 in fibroblasts in aged human skin. Am J Pathol. 2009. 174:101-114. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2009.080599>
- Geahchan S, Baharlouei P, Rahman A. Marine collagen: A promising biomaterial for wound healing, skin anti-aging, and bone regeneration. Mar Drugs. 2022. 20:61. <https://doi.org/10.3390/md20010061>
- Hui-Beckman JW, Goleva E, Leung DYM, et al. The impact of temperature on the skin barrier and atopic dermatitis. Ann Allergy Asthma Immunol. 2023. 131:713-719. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2023.08.007>
- Jia G, Aroor AR, Jia C, et al. Endothelial cell senescence in aging-related vascular dysfunction. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis. 2019. 1865:1802-1809. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.08.008>
- Kim BJ, Lee NR, Lee CH, et al. Increased expression of 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 contributes to epidermal permeability barrier dysfunction in aged skin. Int J Mol Sci. 2021. 22:5750. <https://doi.org/10.3390/ijms22115750>
- Krouwer VJD, Hekking LHP, Langelaar-Makkinje M, et al. En-

- endothelial cell senescence is associated with disrupted cell-cell junctions and increased monolayer permeability. *Vasc Cell*. 2012. 4:12. <https://doi.org/10.1186/2045-824X-4-12>
- Michalak M, Pierzak M, Kręcis B, et al. Bioactive compounds for skin health: A review. *Nutrients*. 2021. 13:203. <https://doi.org/10.3390/nu13010203>
- Oakley R, Tharakan B. Vascular hyperpermeability and aging. *Aging Dis*. 2014. 5:114-125. <https://doi.org/10.14336/AD.2014.0500114>
- Ono S, Egawa G, Kabashima K. Regulation of blood vascular permeability in the skin. *Inflamm Regen*. 2017. 37:11. <https://doi.org/10.1186/s41232-017-0042-9>
- Panwar P, Butler GS, Jamroz A, et al. Aging-associated modifications of collagen affect its degradation by matrix metalloproteinases. *Matrix Biol*. 2018. 65:30-44. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2017.06.004>
- Papaccio F, D'Arino A, Caputo S, et al. Focus on the contribution of oxidative stress in skin aging. *Antioxidants*. 2022. 11:1121. <https://doi.org/10.3390/antiox11061121>
- Papakonstantinou E, Roth M, Karakiulakis G. Hyaluronic acid: A key molecule in skin aging. *Dermatoendocrinol*. 2012. 4: 253-258. <https://doi.org/10.4161/derm.21923>
- Pu SY, Huang YL, Pu CM, et al. Effects of oral collagen for skin anti-aging: A systematic review and meta-analysis. *Nutrients*. 2023. 15:2080. <https://doi.org/10.3390/nu15092080>
- Quan T, Fisher GJ. Role of age-associated alterations of the dermal extracellular matrix microenvironment in human skin aging: A mini-review. *Gerontology*. 2015. 61:427-434. <https://doi.org/10.1159/000371708>
- Quan T, Qin Z, Xia W, et al. Matrix-degrading metalloproteinases in photoaging. *J Invest Dermatol Symp Proc*. 2009. 14:20-24. <https://doi.org/10.1038/jidsymp.2009.8>
- Reglero-Real N, Rolas L, Nourshargh S. Aging microvasculature: Effects on immune cell trafficking and inflammatory diseases. *J Exp Med*. 2025. 222:e20242154. <https://doi.org/10.1084/jem.20242154>
- Shin JW, Kwon SH, Choi JY, et al. Molecular mechanisms of dermal aging and antiaging approaches. *Int J Mol Sci*. 2019. 20:2126. <https://doi.org/10.3390/ijms20092126>
- Slominski A, Wortsman J. Neuroendocrinology of the skin. *Endocr Rev*. 2000. 21:457-487. <https://doi.org/10.1210/edrv.21.5.0410>
- Stern R, Maibach HI. Hyaluronan in skin: Aspects of aging and its pharmacologic modulation. *Clin Dermatol*. 2008. 26:106-122. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2007.09.013>
- Subhan F, Hussain Z, Tauseef I, et al. A review on recent advances and applications of fish collagen. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2021. 61:1027-1037. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1751585>
- Tiganescu A, Hupe M, Jiang YJ, et al. UVB induces epidermal 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 activity *in vivo*. *Exp Dermatol*. 2015. 24:370-376. <https://doi.org/10.1111/exd.12682>
- Tiganescu A, Tahrani AA, Morgan SA, et al. 11 $\beta$ -Hydroxysteroid dehydrogenase blockade prevents age-induced skin structure and function defects. *J Clin Invest*. 2013. 123:3051-3060. <https://doi.org/10.1172/JCI64162>
- Tiganescu A, Walker EA, Hardy RS, et al. Localization, age- and site-dependent expression, and regulation of 11 $\beta$ -hydroxy steroid dehydrogenase type 1 in skin. *J Invest Dermatol*. 2011. 131:30-36. <https://doi.org/10.1038/jid.2010.257>
- Xu C, Wu X, Hack BK, et al. TNF causes changes in glomerular endothelial permeability and morphology through a Rho and myosin light chain kinase-dependent mechanism. *Physiol Rep*. 2015. 3:e12636. <https://doi.org/10.14814/phy2.12636>
- Yang SJ, Hong JH. Physicochemical properties and biological activities of collagens with different molecular weights from Alaska Pollack (*Theragra chalcogramma*) skin. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2014. 43:1535-1542. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2014.43.10.1535>
- Yang Z, Guo C, Zhu P, et al. Role of glucocorticoid receptor and CCAAT/enhancer-binding protein  $\alpha$  in the feed-forward induction of 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 expression by cortisol in human amnion fibroblasts. *J Endocrinol*. 2007. 195:241-253. <https://doi.org/10.1677/JOE-07-0303>
- Yang Y, Yin F, Hang Q, et al. Regulation of endothelial permeability by glutathione S-transferase Pi against actin polymerization. *Cell Physiol Biochem*. 2018. 45:406-418. <https://doi.org/10.1159/000486918>
- Yuan SY, Rigor RR. Regulation of endothelial barrier function. Chapter 4. The endothelial barrier. 2010 [cited 2025 Aug 4]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54117/>
- Zhuang YL, Sun LP. Anti-melanogenic activities of collagen peptides from jellyfish (*Stomolophus meleagris*). *Adv Mater Res*. 2011. 343-344:505-512. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.343-344.505>