

C57BL6 마우스에서 복합생약제인 황금궁의 육모 효과

허진주 · 리란 · 유설혜 · 백인정 · 연정민 · 남상윤 · 윤영원 · 황석연* · 홍진태** · 이범준#
충북대학교 수의과대학 및 동물의학연구소, *충북대학교병원 진단검사의학과, **충북대학교 약학대학
(Received November 9, 2005; Revised November 15, 2005)

Effect of Hwanggungung, a Natural Product, on Hair Growth Promotion in C57BL6 Mice

Jin-Joo Hue, Lan Li, Sul-Hye Lyu, In-Jeoung Baek, Jung-Min Yon, Sang-Yoon Nam,
Young Won Yun, Seock-Yeon Hwang*, Jin Tae Hong** and Beom Jun Lee#

College of Veterinary Medicine and Research Institute of Veterinary Medicine,

*Chungbuk National University Hospital and

**College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

Abstract — Hwanggungung (HGG) is a hair-care product which is composed of several plant extracts used in oriental medicine. This study was carried out to investigate effect of HGG on hair regrowth in a shaving model of C57BL6 mice. Five-week-old mice were acclimated for 1 week under $23 \pm 3^\circ\text{C}$, $50 \pm 10\%$ relative humidity, and 12 h of a light/dark cycle before beginning experiment. There were four experimental groups including distilled water (D.W., control), 10% ethanol (EtOH, vehicle control), a positive control of 3% minoxidil (MXD), and HGG for female and male mice, respectively. Six-weeks old mice were trimmed by electric clippers so as not to damage the skin. The next day, mice without visible scratches were selected, randomized and separated in groups of 11 mice. The test compounds were topically treated with 0.15 ml per mouse per day for 21 days. The hair regrowth was photographically and histologically determined during the experimental period of 21 days. Enzyme activities of γ -glutamyl transpeptidase and alkaline phosphatase were also determined using a rate assay method. There were no clinical signs in all experimental groups. The topical application of 3% MXD and HGG in female mice promoted hair regrowth earlier and faster than the control groups. In male mice, the topical application of 3% MXD and HGG also accelerated hair growth compared with the controls. Ten percent ethanol also promoted hair growth faster than D.W group. The histology of hair growth in experimental groups was strongly associated with the hair regrowth. 3% MXD and HGG promoted elongation of hair follicles compared with the controls in both female and male mice. Activities of alkaline phosphatase and γ -glutamyl transpeptidase, enzymes related to hair growth, significantly increased after treatments of 3% MXD and HGG for 2 weeks in both female and male mice ($p < 0.05$). These results suggest that HGG has hair growth promoting activities and it can be for treatment for alopecia.

Keywords □ alopecia, C57BL6 mice, minoxidil, hair regrowth, alkaline phosphatase, γ -glutamyl transpeptidase

사람의 모발은 뇌와 그것을 둘러싸고 있는 두개골 보호와 같은 본래의 기능 이외에도 미용적인 면에서 큰 기능을 갖고 있어 탈모, 양모 및 탈모 예방은 예로부터 많은 관심의 대상이 되고 있다.¹⁾ 최근에는 기존의 중년 남성뿐 아니라 젊은 층과 여성층에서도 탈모예방과 양모 등에 대한 관심이 증가하고 있다. 이는 남성에서 발생하는 유전적인 요인 이외에 현대사회로 들어서면서 여성들의 사회활동 증가, 입시나 직장에서의 스트레스 증가

및 서구화된 식사습관에서 오는 영양 불균형, 이밖에 화공약품이 주성분인 무스, 스프레이, 염모제 등이 탈모에 직, 간접적으로 영향을 미칠 수 있는 많은 사회 문화적인 요인들의 변화에서 기인하는 것으로 생각되고 있다.

최근 전 세계적으로 많은 대학 및 기업 연구소 등에서 모발 성장과 탈락에 대한 세포학적, 생화학적 또는 분자생물학적 연구를 통해 탈모치료 및 모발성장을 촉진시킬 수 있는 약물의 개발에도 많은 노력을 기울이고 있다. 일반적으로 모발성장주기(hair growth cycle)는 3단계로 구성되는 데, 모발이 가장 활발하게 성장하는 anagen기, 모발의 퇴화가 시작되는 catagen기 및 모발의 성장이 멈추거나 휴지기에 접어드는 telogen기로 분류하게 된다.²⁾

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 043-261-3357 (팩스) 043-267-3150
(E-mail) beomjun@cju.ac.kr

현재 모발성장을 촉진하는 약물로는 minoxidil과 finasteride이 잘 알려져 있으며 미국 Food and Drug Administration(FDA)의 승인을 받은 제품들이다. Minoxidil은 원래 고혈압 치료를 위한 혈관확장제로 개발되었으나 부작용으로 다모증이 보고 되면서 발모제로 개발되었고 그 발모효과에 대한 작용기전은 현재까지 명확히 밝혀지지 않았지만 혈관확장을 통한 영양공급 증가 및 potassium channel opening 효과 등이 모발성장을 유도하는 것으로 생각되고 있다.^{3,4)} 또한 finasteride는 남성호르몬 대사에 작용하는 효소인 5 α -reductase의 활성을 억제시키는 물질로 알려져 있다.⁵⁾

발모, 양모 및 탈모예방 연구에 이용되는 실험법으로는 실험동물을 이용한 *in vivo* 평가와 모낭세포 및 조직배양을 이용한 *in vitro* 평가 등이 주로 이용되고 있다.⁶⁾ 1980년대에 들어 모낭을 구성하고 있는 핵심 세포인 모유두세포(dermal papilla cell)와 외모근초세포(outer root sheath cell)의 배양법이 개발되면서 모낭에서의 분화기전에 대한 연구가 활기를 띠게 되었다.^{7,8)} 그러나 이러한 *in vitro* 배양기법을 이용한 평가는 모낭 조직 내에서의 세포간의 상호작용과 모낭조직과 주위를 둘러싼 진피조직과의 상호작용, 그리고 혈액순환이 배제되는 등 모발 성장에 직, 간접적으로 영향을 미칠 수 있는 많은 요소들이 배제되어 있어 한계성을 지니고 있다.^{9,10)} 따라서 각종 생화학적 평가를 통해 탐색되는 많은 약물들의 실제 효과를 검증하기 위해서는 아직까지 실험동물을 이용한 효능평가 및 임상실험 등이 주로 이용되고 있는 실정이다.^{11,12)} 또한, 최근에는 생화학적, 분자생물학적 실험 방법을 이용하여 모발 성장과 관련된 각종 성장인자나 유전자의 동정, 작용기전 연구 및 약물탐색연구가 활발히 진행되고 있다. 그 중 발모와 관련된 생화학적 효소인 γ -GT(γ -glutamyl transpeptidase)는 membrane-bounded enzyme으로 glutathione대사와 세포막을 통한 아미노산과 펩티드의 흡수, 배출에 관여하며, 특히 anagen기의 가장 좋은 지표로 보고된 바 있다.¹³⁻¹⁵⁾ 또한 alkaline phosphatase(ALP)가 발모 기전에 관여하는 바는 규명되어 있지 않지만 모발 생성 과정 중 hair matrix내 혈관 신생에 관여한다는 보고와 발모가 일어나면서 효소 활성이 증가한다는 보고가 있어 발모의 또 다른 지표로 고려될 수 있다.¹⁵⁾

발모, 양모 및 탈모방지 등의 효과를 평가하기 위하여 이용되는 실험동물모델로는 붉은 꼬리원숭이(stumptailed macaque), 토끼(rabbit), 햄스터(hamster), 생쥐(mouse) 등이 있다. 이들 중 C57BL6 mouse는 체모가 검정색이고, 자발적 탈모(spontaneous alopecia)가 일어나는 특징을 지니고 있으며, 또한 melanocyte가 모낭에만 한정적으로 존재하고 melanin합성이 모발성장주기(hair growth cycle)와 잘 일치되어 피부색으로 모발의 성장주기를 판정할 수 있는 장점을 가져 모발생리 연구에 널리 이용되고 있다.^{17,18)}

본 실험에서 사용한 황금궁은 주성분으로 글리시리진산디칼륨, 당약 및 인삼추출액, 그리고 보습제로 밀감 및 궁내이에감 추출물을 함유하고 있는 천연 생약 제품이다. 이러한 개별 추출물에 대한 양모효과는 아직 알려지지 않았고 본 연구에서는 C57BL6 마우스를 사용하여 혼합 알콜 추출물인 황금궁의 양모 효과를 용매인 10% 알콜 및 Minoxidil과 비교를 통하여 평가 분석하였다.

재료 및 방법

시료의 준비

시험물질인 황금궁(Lot No. 04E01)은 글리시리진산디칼륨, 당약추출액 및 인삼추출액(추출액은 에탄올과 물 혼합액으로 추출된 것임)을 주성분으로 그리고 밀감 및 궁내이에감 추출물을 보습제로 함유한 제품으로 한일건강마을로부터 공급받았다. 비교 대상 물질로서 3% minoxidil(3% MXD : 현대약품)을 제조사로부터 구입하였다.

실험동물

생후 5주된 암·수컷 C57BL6 마우스를 (주)대한바이오링크로부터 구입하여 1주간 동물 사육실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 동물 사육실은 온도 23 \pm 3 $^{\circ}$ C, 상대 습도 50 \pm 10%, 12시간씩 밤낮을 유지하였다. 실험동물은 격리용 마우스 케이지((주)삼광)에서 사육하였고 실험동물용 사료(삼양 사료) 및 상수 도물을 자유로이 급여하였다. 군은 암·수컷 각각 4개로 총 8개 군으로 군당 11마리씩 총 88마리를 실험에 사용하였다.

음수·사료섭취량 및 체중측정

음수·사료섭취량 및 체중은 발모 시험물질 도포직전부터 측정하여 실험 종료 시까지 일정한 시간(오전 10시)에 측정하였으며 임상증상은 매일 관찰하였다.

발모제의 도포 및 육안적 관찰

발모 효과를 살펴보기 위해, 등쪽 피부의 색이 pink color를 보이는 휴지기 체모의 6주령을 사용하였다. Electric animal clipper를 이용하여 조심스럽게 마우스의 등판의 털을 깎아 내어 털을 제거한 후, 그 부위에 0.15 ml의 시료를 각 군별로 도포하고 붓을 사용하여 문지르며 고르게 분포시켜주었다. 시료 처리는 매일 오전 10시에 1회씩 21일간 실시하였다. 음성대조군으로서 증류수, 용매대조군으로서 10% 에탄올(10% EtOH), 양성대조군으로서 3% minoxidil, 그리고 시험물질로 황금궁을 도포하였다. 실험 시작 후 0일, 4일, 7일, 10일, 14일, 17일 및 21일에 털이 자라는 상태를 육안적으로 확인하기 위하여 에테르로 가볍게 마취한 후 사진촬영을 실시하였으며, 털이 자란 상태 정도를 육안적으로 판단하여 비교하였다.

조직학적 분석

시험 7, 14, 21일째에 시료도포부위를 해부기를 이용하여 적출한 후 formalin으로 고정하였다. 단계별로 alcohol과 xylene으로 탈수처리하여 파라핀으로 포매한 후, microtome을 이용하여 5 μ m의 절편을 제작하여 다시 alcohol과 xylene으로 파라핀을 제거하였다. Hematoxylin & eosin 염색하여 광학현미경으로 모낭 조직의 조직학적 변화를 관찰하였다.

효소 활성도 측정

시험 7, 14, 21일째에 4개군에서 각각 3마리 마우스에서 피부 조직을 적출하여 빙냉하에서 미세절편으로 만들고, 그 중 일정량을 칭량한 후, 4배량의 0.1 M 인산완충용액(pH 7.4)을 가하여 homogenizer를 이용하여 20%(w/v) 마쇄 균질액을 만들었다. 이 균질액을 12,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 그 상등액을 취해 효소활성도 측정에 사용하였다. Total protein은 Biuret method로 단백질의 peptide bonds는 알칼리 용액에서 Cu(II)이온과 chelate화합물을 형성하여 자색으로 발색되는 원리를 이용하여 이를 540 nm에서 비색 정량하여 측정하였으며, alkaline phosphatase(ALP)의 활성은 ρ -nitrophenolphosphate(PNPP)-DEA를 이용한 enzyme rate assay(GSCC) 법을 그리고 γ -glutamyl transpeptidase(γ -GT)활성은 Modified SZASZ method에 의한 rate assay법을 이용하여 각각 측정하였다.^{16,19)} 측정장비로는 생화학 자동분석기인 Hitachi-747(Hitachi medical Co. LTD, Japan)을 이용하여 분석하였으며, 사용된 시약은 모두 Daichi (Daichi chemical Co, LTD, Japan)사의 것을 이용하여 측정하였으며, 그 외 기타사항은 임상병리시험기준에 준하였다. 측정치에 대한 통계분석은 one-way ANOVA로 하였으며 군간 유의성은 Student's t test로 분석하였다.

결 과

음수·사료섭취량 및 체중의 변화

각 시료를 투여한 마우스에 있어서 음수· 및 사료섭취량은 대조군과 비교하여 유의차가 없었으며, 또한 특별한 임상증상을 보이지 않았다. 체중에서는 3% MXD군에서 암컷과 수컷에서 다소 증가하는 경향을 보였으나 대조군에 비해 유의차는 없었다(Figs. 1 & 2).

양모의 육안적 변화

제모 1일후부터 각각의 시료를 제모된 부위에 도포하였다. 암컷에서는 음성대조군으로서 증류수를 사용한 마우스와 용매대조군으로 쓰인 10% EtOH에서는 10일까지 거의 털이 자라지 않았다(Fig. 3). 그러나, 3% MXD을 도포한 군에서는 암컷 모두에서 도포 10일부터 등쪽의 색이 검게 돌아오는 것이 관찰되었고,

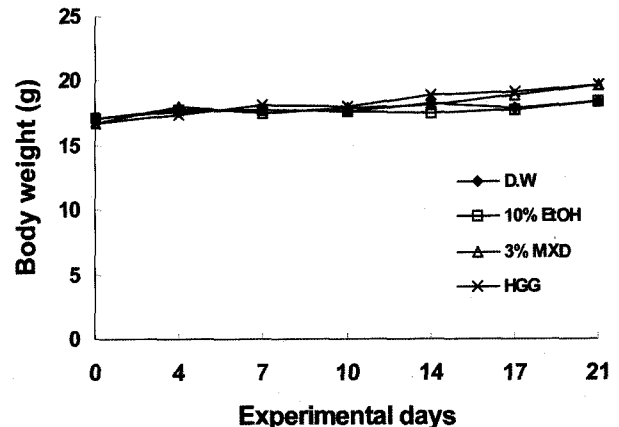


Fig. 1 - Change in body weight by topical treatments of test compounds for 21 days in an alopecia model of C57BL/6 female mice. D.W., distilled water; EtOH, ethanol; MXD, minoxidil; HGG, hwanggungung.

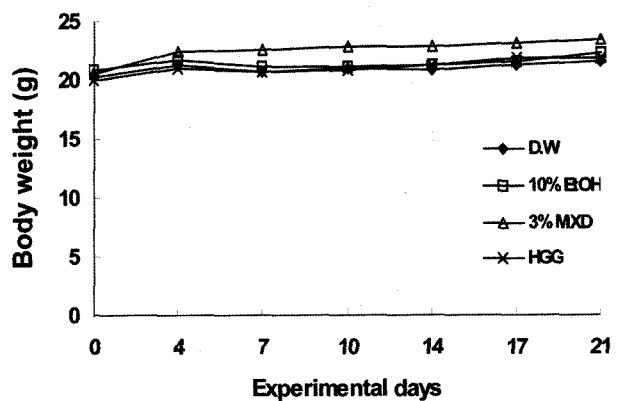


Fig. 2 - Change in body weight by topical treatments of test compounds for 21 days in an alopecia model of C57BL/6 male mice. D.W., distilled water; EtOH, ethanol; MXD, minoxidil; HGG, hwanggungung.

14일경에는 등쪽에 털의 일부가 자란 것을 확인할 수 있다. 황금궁 투여군에서도 투여 10일째 암컷 마우스에서 미약하게 털이 자라는 것을 관찰할 수 있었다. 시험 14일째에는 증류수를 포함한 모든 시험군의 마우스의 등에서 털이 나는 것을 관찰할 수 있었으며, 특히 3% MXD 및 황금궁에서는 집락형태의 모발성장을 관찰할 수 있었다. 시험 14일 이후 암컷 마우스에서 황금궁의 모발 성장 촉진 효과는 3% MXD와 거의 유사하였다. 17일 이후에도 D.W.군에서는 털이 미미하게 자랐으나 황금궁 및 3% MXD군에서는 모든 마우스의 털이 왕성하게 자란 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3). 수컷에서는 증류수와 10% EtOH를 도포한 마우스에서 도포 14일경에 털이 일부분이 자라는 것을 관찰할 수 있었고, 21일에서는 등 중앙부위에 어느 정도털이 자란 것을 확인할 수 있었다. 3% MXD을 도포한 군에서는 10일경에 약간의 털이 자라는 것이 관찰되었고, 14일 이후에는 대부분의 털이 자

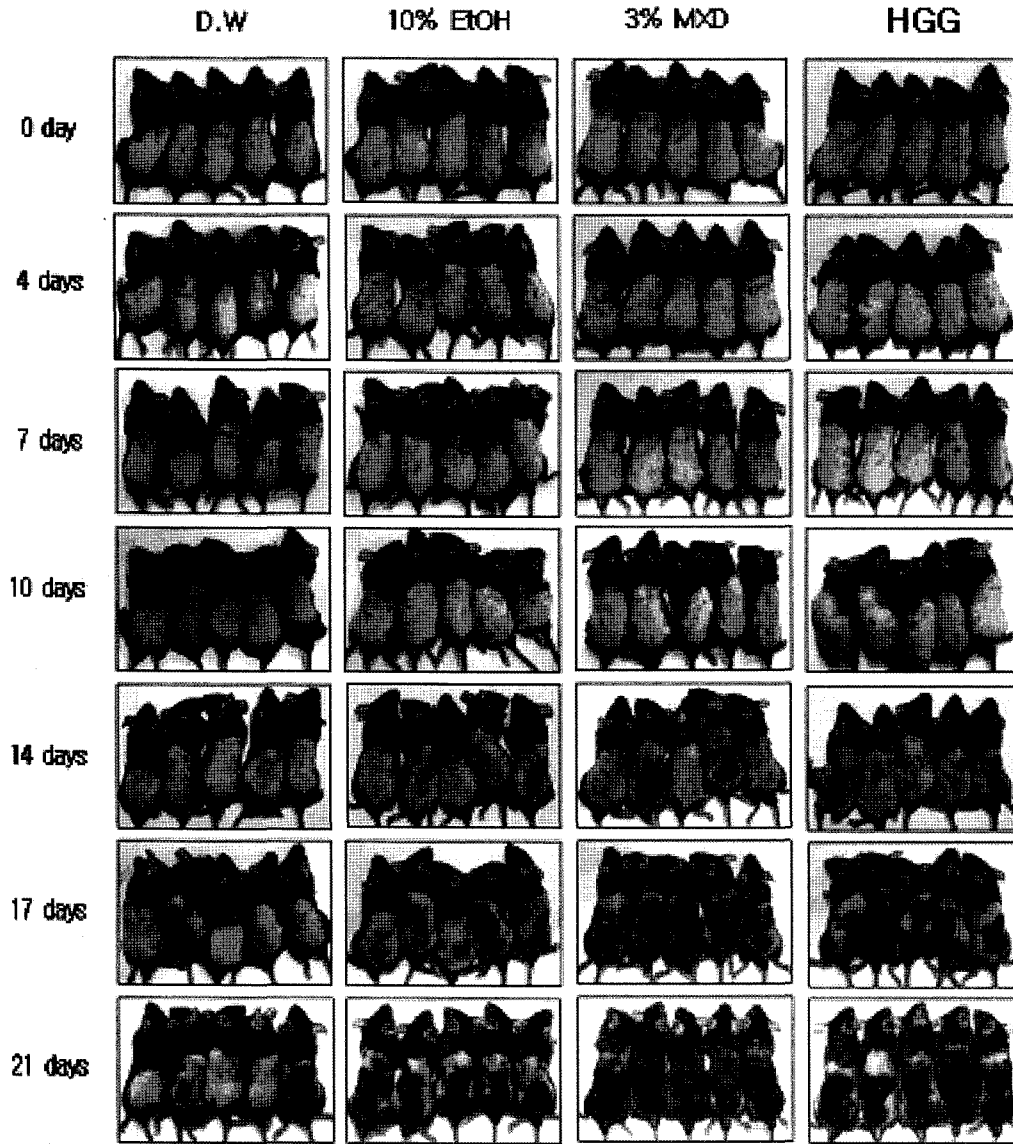


Fig. 3 – Hair regrowth changes in a time-dependent manner by topical applications of test compounds for 21 days in an alopecia model of C57BL6 female mice. D.W, distilled water; EtOH, ethanol; MXD, minoxidil; HGG, hwanggungung.

란 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4). 한편, 황금궁군은 10일과 14 일 사이에 털이 자라기 시작하여 시간이 경과함에 따라 빠르고 고르게 털이 자라는 것을 관찰할 수 있었으며, 17일째에는 거의 모든 마우스에서 왕성하게 털이 자란 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4). 대조군의 암컷 및 수컷 마우스에서 14일경부터 약간의 털이 자라기 시작하여 21일째 수컷 마우스에서 더 많이 자란 털을 관찰할 수 있었고 황금궁의 효과는 암·수컷 모두에서 3% MXD와 거의 유사하게 모발성장을 촉진하였으나, 그 효과가 암컷에서 뛰어난 것처럼 보였다.

양모의 조직학적 변화

황금궁이 피부의 모낭 및 모근의 성장에 미치는 효과를 조사

하고자, 각 물질을 도포한 후 7일별로 부검하여 발모현상을 조직학적으로 관찰하였다. 암컷에서 황금궁은 대조군과 비교하여 모낭의 증식이 활발하게 이루어지고 모근의 크기 및 길이가 성장하는 것이 관찰되었다(Fig. 5). 수컷에서도 역시 대조군과 비교하여 모낭의 증식이 활발하게 일어나는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 6). 양성대조군(3% MXD)과 시험물질(황금궁)도포 7일 경과 후 암수컷 마우스 모두의 조직은 표피(epidermis)층 증식이 활발히 이루어져 대조군에 비해 두꺼워졌으며, 또한 모낭의 새로운 생성을 확인할 수 있었다(Fig. 5 & 6). 도포 14일후에는 대조군에 비해 크기가 커지고 다수의 모낭을 관찰할 수 있었다. 21일 경과후 황금궁 시험군은 암수컷 마우스 모두에서 대조군에 비해 길어진 모낭이 다수 관찰되었다. 또한 모든 시험군에서 염증

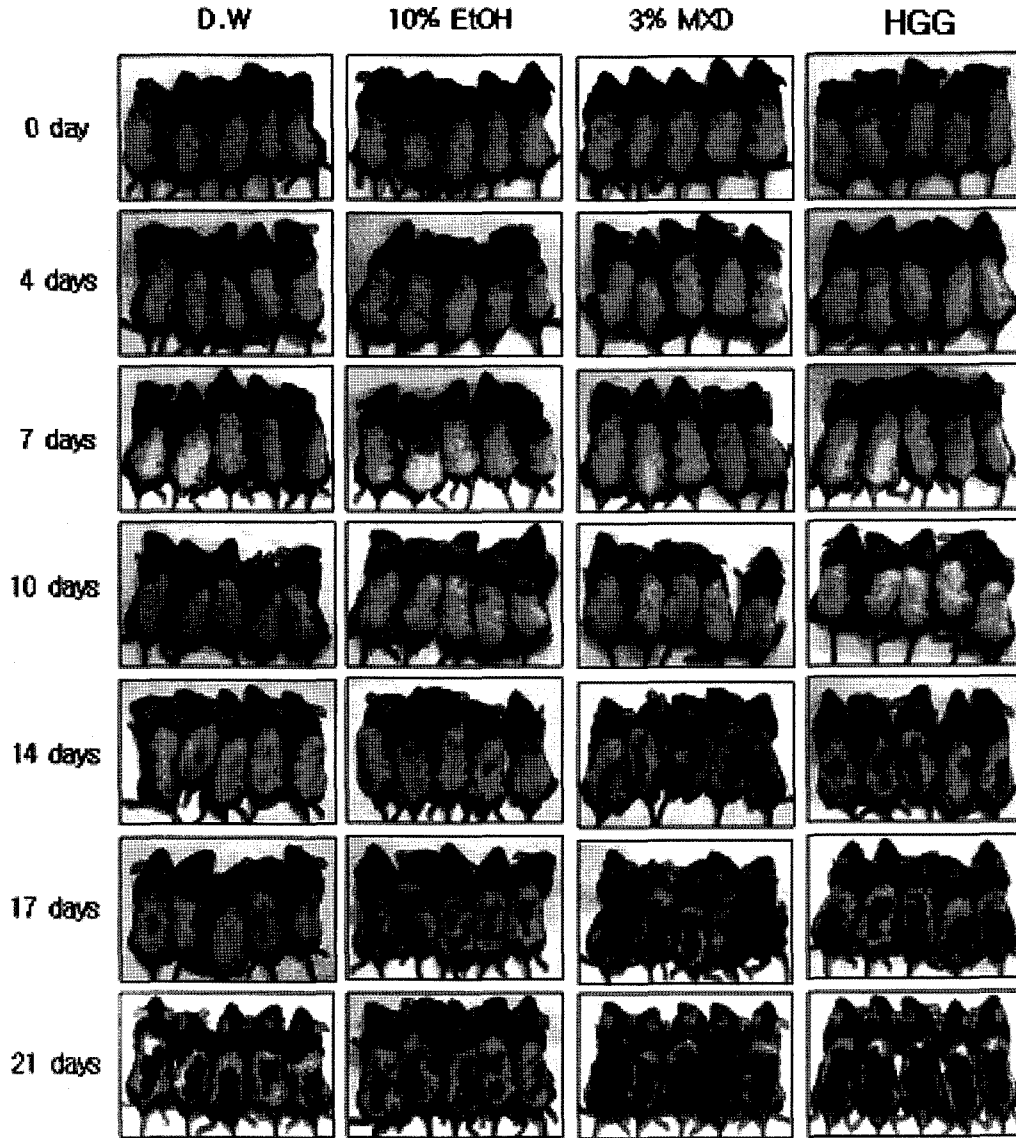


Fig. 4 - Hair regrowth changes in a time-dependent manner by topical applications of test compounds for 21 days in an alopecia model of C57BL6 male mice. D.W, distilled water; EtOH, ethanol; MXD, minoxidil; HGG, hwanggungung.

소견이나 기타 병리학적인 소견은 발견되지 않았다(Fig. 5 & 6).

효소 활성도의 변화

γ -glutamyl transpeptidase(γ -GT) 활성 - γ -GT는 증식과 분열이 활발한 세포내에서 많이 발견되는데 따라서 모발성장 주기 중 anagen기에 좋은 지표로 활용될 수 있다. Fig. 7과 8은 각각 암컷과 수컷에서 시험그룹별 날짜 경과에 따라 적출된 피부 조직의 γ -GT 측정 결과이다. 제모시 면도에 의한 피부자극으로 올 수 있는 초기 효소활성의 영향을 배제하고자 제모 1주 후부터 매 주 측정하였고, 제 1주 후에 암컷에서는 각 군에서 유의성 있는 변화가 없었으며, 수컷에서는 3% MXD와 황금궁군이 증류수 대조군보다 높은 γ -GT의 활성을 나타내었다(Fig. 7 & 8) 제 2주

후에는 암컷에서 10% 에탄올, 3% MXD 및 황금궁군 모두에서 증류수 대조군보다 γ -GT의 활성이 높게 나타났으나 vehicle 대조군에 비해서는 유의성이 없었다(Fig. 7). 제 2주 수컷에서는 각 그룹간의 유의차가 존재하여 3% MXD, 황금궁, 10% 에탄올, 증류수군의 순으로 높은 γ -GT 활성을 보였다(Fig. 8). 제 3주 후 암컷 마우스 모두에서 대조군들에 비해 3% MXD 및 황금궁군에서 높은 γ -GT 활성을 보였다(Fig. 7 & 8).

Alkaline phosphatase(ALP) 활성 -ALP는 주로 혈관 신생에 관여하며, 진피 유두에 밀집되어 있는 모세 혈관으로 영양을 공급함으로써 발모 작용을 원활하게 해주는 것으로 알려져 있다. 따라서 ALP 측정은 발모 작용을 간접적으로 추측 가능한 것으로 보고 된다. Fig. 9과 10는 날짜 경과에 따른 ALP 활성을 측

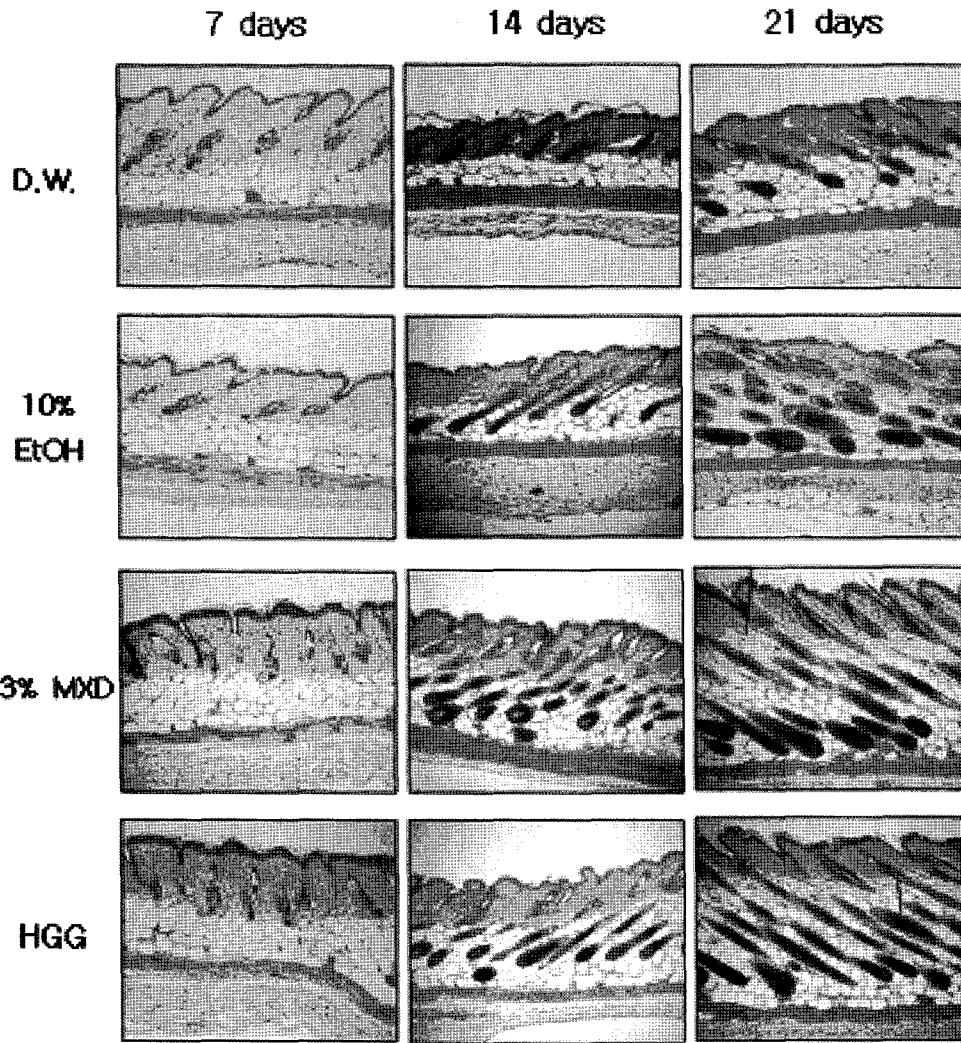


Fig. 5 - Histology of hair regrowth in a time-dependent manner by topical application of test compounds for 21 days in an alopecia model of C57BL6 female mice. H&E, X40. D.W., distilled water; EtOH, ethanol; MXD, minoxidil; HGG, hwanggungung.

정한 것으로 1주 후 암컷 마우스에서 3% MXD 와 황금궁군에서 ALP의 높은 활성이 관찰되었으며(Fig. 9), 수컷마우스에서는 3% MXD군에서만 유의성($p < 0.01$) 있게 높았다(Fig. 10). 제 2주 및 3주 후에는 암수컷 모두에서 3% MXD와 황금궁군에서 대조군에 비해 유의성($p < 0.01$) 있게 높은 ALP 활성을 나타내었다(Fig. 9 & 10).

고 찰

최근 탈모 및 세모로 심리적 고통을 받는 남성 및 여성이 증가하고 있다. 그래서 탈모방지 혹은 양모에 대해 효능이 있는 약제의 개발이 매우 중요하다. 이러한 점에서 현재 Minoxidil은 잘 알려진 발모제이나 한약 혹은 약용식물을 사용하는 대체의학이 점차 주목을 받고 있다. 본 실험에 사용된 황금궁은 생약성분의 제제로 현대인의 기호와 필요를 충족시킬 수 있는 제품으로 개

발되어 실험동물(C57BL6 마우스)에서 모발 성장 효과가 있는지를 평가하였다.

수컷의 탈모 패턴에 대한 형태학적, 조직학적 및 생화학적 측면은 짧은 꼬리 원숭이를 가지고 연구한 끝에 알려졌다. 대표적인 수컷의 탈모패턴은 telogen기가 길어지고 anagen기가 짧아진다. 탈모의 한 가지 조직학적 특징은 anagen기 모양이 충분히 길어지지 않는다는 것이다. 자라나는 모발의 두터움은 모낭의 크기로 결정된다. 그러므로 초기 anagen기에서 중기 anagen기까지 자라나는 모낭의 길이가 정상 모발 주기에서 매우 중요하다.^{20,21)} 본 실에서 C57BL6 마우스를 실험동물 모델로 사용하였는데, C57BL6 마우스는 6주령부터 모발 주기가 telogen기로 들어간다고 알려져 있다. 우리는 5 주령된 실험동물을 구입하여 1주일간 순화기간을 거쳐서 6주령 된 마우스를 가지고 실험을 시작하였다. Telogen기에 들어간 마우스는 털을 깎았을 때 체표면의 색이 분홍색을 띄었고 실험을 진행함에 따라 체표면 색은 청색으

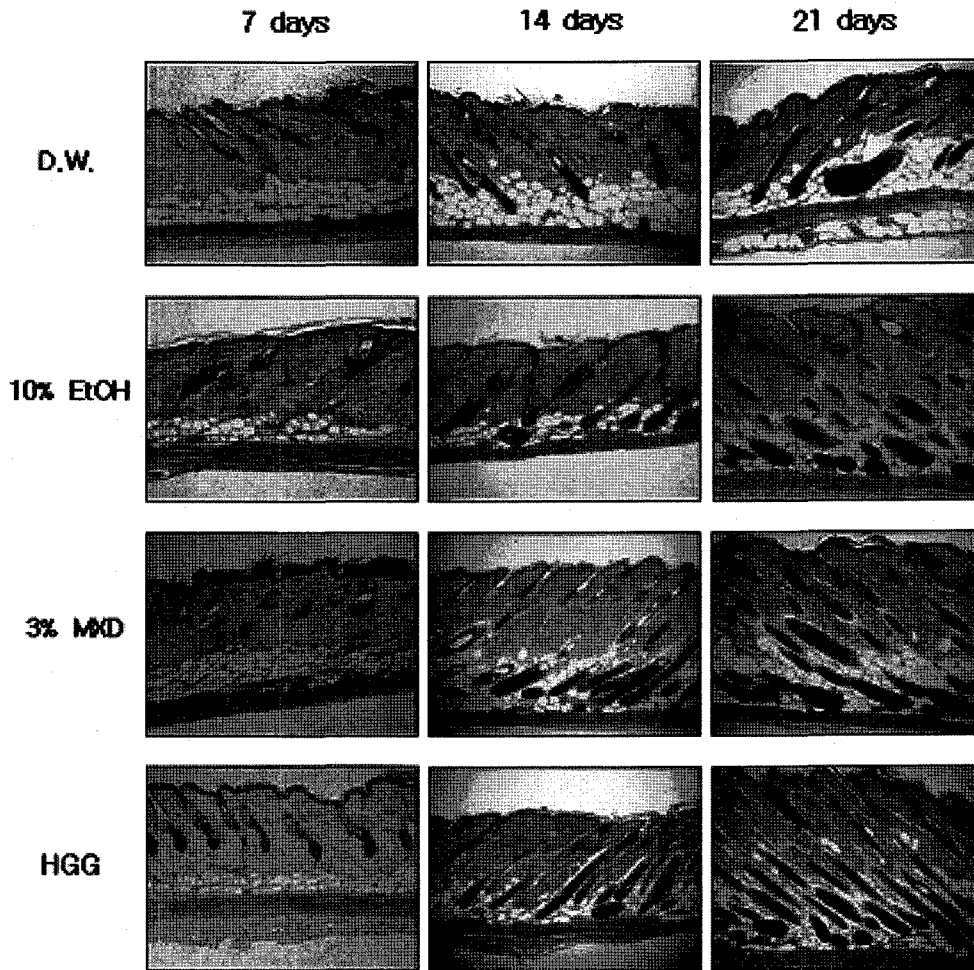


Fig. 6 – Histology of hair regrowth in a time-dependent manner by topical application of test compounds for 21 days in an alopecia model of C57BL6 male mice. H&E, X40. D.W, distilled water; EtOH, ethanol; MXD, minoxidil; HGG, hwanggungung.

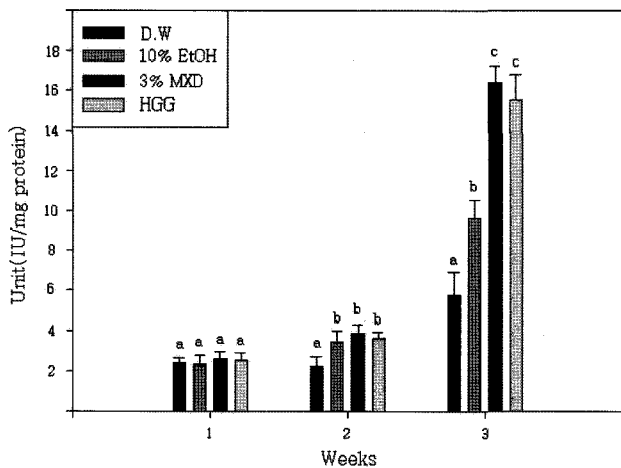


Fig. 7 – Change in γ -glutamyl transpeptidase activity by topical application of test compounds for 21 days in an alopecia model of C57BL6 female mice. D.W, distilled water; EtOH, ethanol; MXD, minoxidil; HGG, hwanggungung. ^{a-c}Means at each week sharing the same superscript letter were not significantly different at $p < 0.05$.

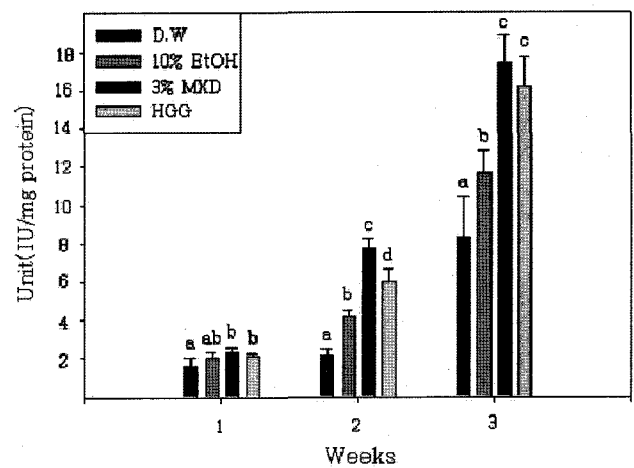


Fig. 8 – Change in γ -glutamyl transpeptidase activity by topical application of test compounds for 21 days in an alopecia model of C57BL6 male mice. D.W, distilled water; EtOH, ethanol; MXD, minoxidil; HGG, hwanggungung. ^{a-d}Means at each week sharing the same superscript letter were not significantly different at $p < 0.05$.

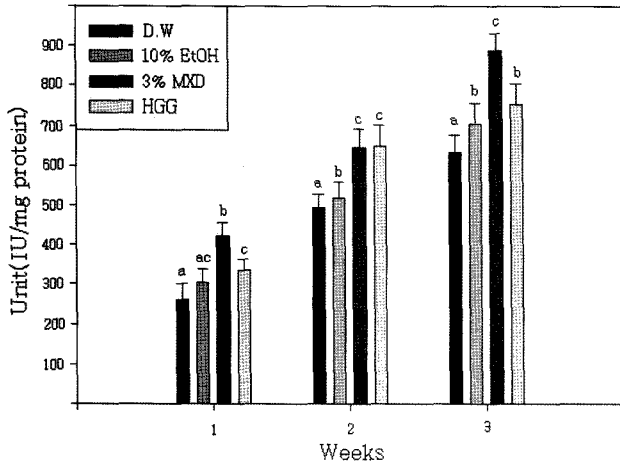


Fig. 9 - Change in alkaline phosphatase activity by topical application of test compounds for 21 days in an alopecia model of C57BL6 female mice. D.W, distilled water; EtOH, ethanol; MXD, minoxidil; HGG, hwanggungung. ^{a-c}Means at each week sharing the same superscript letter were not significantly different at $p < 0.05$.

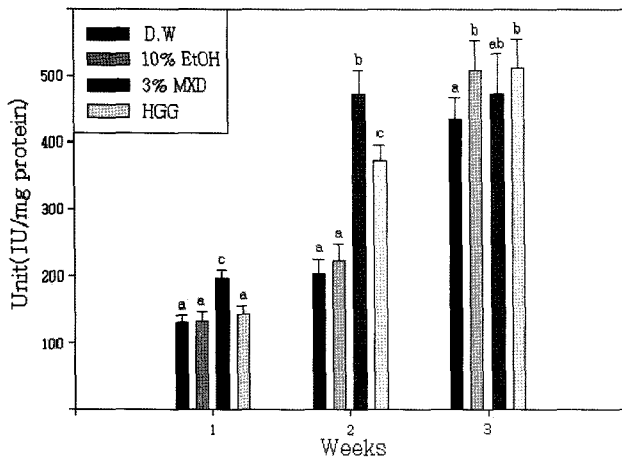


Fig. 10 - Change in alkaline phosphatase activity by topical application of test compounds for 21 days in an alopecia model of C57BL6 male mice. D.W, distilled water; EtOH, ethanol; MXD, minoxidil; HGG, hwanggungung. ^{a-c}Means at each week sharing the same superscript letter were not significantly different at $p < 0.05$.

로 바뀌면서 성장기를 시작하고 점차 검정색으로 변해갔다. 이는 모발 주기가 telogen 기에서 anagen기로 돌아감을 뜻한다.^{17,22)}

본 실험에서 황금궁은 모발의 성장을 촉진하였고, 이러한 효과는 세계적으로 그 효능을 인정받아 발모제로 널리 쓰여지고 있는 MXD과 비슷하게 나타났다. 시험 10일 후부터 빠르게 모발 성장을 유도하여 21일 경에는 전 체표면에 자란 털로 덮인 것을 관찰 할 수 있었다. 좀 더 자세하고 객관적인 자료를 얻기 위하여 조직학적, 생화학적 검사를 병행하였다. 조직학적 검사는 실험시작 7일, 14일, 21일 후 실험동물의 체중을 측정·비교한 후

부검을 하여, 검사 시약을 표면적으로 도포한 등쪽 피부를 채취하여 조직절편을 제작한 후, H&E 염색으로 현미경 검사를 실시하였다. 실험과정 체중은 3% MXD가 다소 증가하는 양상을 보였으나 실험이 종료되는 부검시에는 별다른 차이를 발견하지 못하였다. 조직 검사시 황금궁 및 3% MXD군이 대조군보다 모낭의 길이와 크기가 크게 증가하는 것을 보였다. 이는 암컷과 수컷 모두에서 동일하게 관찰되었다. 또한 염증이거나 다른 병리학적 소견을 나타내지 않았다. 생화학적 지표로 피부의 γ -GT와 ALP의 활성은 암 수 모든 마우스에서 3% MXD 및 황금궁군에서 유의성 있는 증가를 보였는데, 이는 육안적 및 조직학적 결과와 매우 유사한 경향을 나타내었다. Hamada와 Suzuki는 C3H 수컷마우스에서 모발성장주기의 지표로서 여러 생화학적 효소들을 측정하였는데 그 중 γ -GT와 ALP가 모발의 성장과 관련성을 보였다고 보고 하였다.¹³⁾ γ -GT의 경우 탈모 후 11일 후부터 유의성 있게 증가하기 시작하여 2주 후에 최고로 높은 활성을 보였고 그 활성이 18일까지 지속되었다.¹³⁾ 본 연구에서 γ -GT의 활성이 투여군에서 대조군보다 성장기에 일찍 증가하기 시작하여 21일 후에 최고로 높은 활성을 보였는데, 비록 본 연구에서 3주 후에 그 효소활성들을 측정을 하지 않았지만 감소하는 경향을 보였으리라 추측된다.²³⁾ 본 연구에서 3% MXD와 황금궁군에서 체모 후 성장기가 초기에 유도되어 γ -GT의 활성이 증가되는 것은 초기 성장기에 케라틴화에 필요한 cystein으로 분해하는데 γ -GT가 관여하는 것으로 사료된다.²³⁾ 한편, C3H 수컷 마우스에서 ALP는 탈모 8일 후에 유의성 있는 증가를 보이기 시작하여 18일까지 지속적으로 증가한다고 보고되었다.¹³⁾ 또한 Handjiski 등은 C57BL6 마우스에서 ALP 활성 및 발현부위가 모발성장주기와 밀접하게 관련되며 전 주기를 통해 dermal papilla에서 강한 발현 및 활성을 보였고 낮은 anagen기나 초기 catagen기에서는 outer root sheath에서 ALP-positive 반응이 나타났다고 보고 하였다.¹⁶⁾ 본 연구에서도 whole skin을 마취하여 얻은 결과로서 투여군의 경우 대조군보다 ALP의 활성이 성장초기에 증가하기 시작하여 1주 후부터 유의성 있는 높은 활성을 보였으며 이러한 결과는 암수 마우스에서 공히 발생하였다. 본 연구에서 3% MXD와 황금궁군에서 ALP 효소의 활성과 γ -GT의 활성이 유사한 양상을 보였는데, 이는 두 물질이 혈관 확장을 통해 혈액 순환을 증가 시켜 모발 성장에 필요한 영양분을 공급함으로써 발모작용이 나타나는 것으로 추정된다.^{23,24)} MXD는 예전 연구에서 이 실험동물에서 모낭을 자극하여 모낭이 충분히 길어지고 모발 재성장에 도움을 준다고 알려졌지만, 그 후 MXD sulfate가 모낭에 가서 활성 대사물로 전환되어 사람의 머리피부에서 혈액순환이 잘 되도록 작용한다는 것이 밝혀졌다.²⁴⁾

본 실험결과에서 확인하였듯이 황금궁은 MXD와 마찬가지로 C57BL6 마우스에서 모발 재성장에 도움이 된다. 황금궁이 모발 재성장에 작용하는 정확한 기전은 확실히 알려져 있지 않지만,

모낭의 길이와 크기 성장을 촉진시킨다고 할 수 있다. 즉, 모낭 길이의 성장 가속화가 모낭이 anagen기로 돌아가도록 활성화시킨다고 추측할 수 있고, 그 결과, 충분한 모발 재생장에 필요한 시간이 짧아진다. 따라서 위의 결과를 토대로 황금궁은 탈모환자에게 탈모방지 및 양모효과를 기대하며 사용될 수 있으리라 사료된다.

감사의 말씀

이 논문은 2005년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

참고문헌

- 1) Stenn, K. S. : The molecular and structural biology of hair: introduction. *Ann. NY Acad. Sci.* **642**, xi (1991).
- 2) Buhl, A. E., Waldon, D. J., Miller, B. F. and Brunden, M. N. : Differences in activity of minoxidil and cyclosporin A on hair growth in nude and normal mice. *Lab. Invest.* **62**, 104 (1990).
- 3) Burton, J. L. and Marshall, A. : Hypertrichosis due to minoxidil. *Br. J. Dermatol.* **101**, 593 (1979).
- 4) Buhl, A. E., Waldon, D. J., Baker, C. A. and Johnson, G. A. : Minoxidil sulfate is the active metabolite that stimulates hair follicles. *J. Invest. Dermatol.* **95**, 553 (1990).
- 5) Kaufman, K. D. : Clinical studies on the effects of oral finasteride, a type II 5 α -reductase inhibitor, on scalp hair in men with male pattern baldness. In : Hair Research for the Next Millenium (D. Neste and V. A. Randall. ed.), Elsevier Science, Amsterdam, p. 363 (1996).
- 6) Uno, H. : Quantitative models for the study of hair growth *in vivo*. *Ann. NY Acad. Sci.* **642**, 107 (1991).
- 7) Limat, A., Breikreutz, D., Stark, H. J., Hunziker, T., Thikoetter, G., Noser, F. and Fusenig, N. : Experimental modulation of the differentiated phenotype of keratinocytes from epidermis and hair follicle outer root sheath and matrix cells. *Ann. NY Acad. Sci.* **642**, 125 (1991).
- 8) Messenger, A. G., Jennifer, H. and Bleehen, S. S. : The *in vitro* properties of dermal papilla cell lines established from human hair follicles. *Br. J. Dermatol.* **114**, 425 (1986).
- 9) Yang, J. S., Lavker, R. M. and Sun, T. T. : Upper hair follicle contains a subpopulation of keratinocytes with superior *in vitro* proliferative potential. *J. Invest. Dermatol.* **101**, 652 (1993).
- 10) Philpott, M. P., Green, M. R. and Kealey, T. : Human hair growth *in vitro*. *J. Cell Sci.* **97**, 463 (1991).
- 11) Yamamoto, S., Jiang, H. and Kato, R. : Stimulation of hair growth by topical application of FK506, a potent immunosuppressive agent. *J. Invest. Dermatol.* **102**, 160 (1994).
- 12) Paus, R., Stenn, K. S. and Link, R. E. : The induction of anagen hair growth in telogen mouse skin by cyclosporin A administration. *Lab. Invest.* **60**, 365 (1989).
- 13) Hamada, K. and Suzuki, K. : Evaluation of biochemical indices as a hair cycle marker in C3H mice. *Exp. Anim.* **45**, 251 (1996).
- 14) Hattori, M. and Ogawa, H. : Biochemical analysis of hair growth from the aspects of aging and enzyme activities. *J. Dermatol.* **10**, 45 (1983).
- 15) Meister, A. and Anderson, M. E. : Glutathione. *Annu. Rev. Biochem.* **52**, 711 (1983).
- 16) Handjiski, B. K., Eichmuller, S., Hofmann, U., Czarnetzki, B. M. and Paus, R. : Alkaline phosphatase activity and localization during the murine hair cycle. *Br. J. Dermatol.* **131**, 303 (1994).
- 17) Messenger, A. G. : The control of hair growth and pigmentation, In : Disorders of Hair Growth (Elise A Olsen., et al. eds.), McGraw-Hill, New York, p. 39 (1994).
- 18) Chase H. B., Rauch, R. and Smith, V. W. : Critical stages of hair development and pigmentation in the mouse. *Physiol. Zool.* **24**, 1 (1951).
- 19) Meister, A. : On the cycles of glutathione metabolism and transport. *Curr. Top. Cell Regul.* **18**, 21 (1981).
- 20) Uno, H., Allegra, F., Adachi, K. and Montagna, W. : Studies of common baldness of the stump tailed macaque. I. Distribution of the hair follicles. *J. Invest. Dermatol.* **49**, 288 (1967).
- 21) Takashima, I. : Studies of common baldness in the stump-tailed macaque. V. Regional difference of testosterone metabolites in the hair follicles. *J. Dermatol.* **1**, 14 (1974).
- 22) Tobin, D. J., Hagen, E., Botchkarev, V. A. and Paus, R. : Do hair bulb melanocytes undergo apoptosis during hair follicle regression (catagen)? *J. Invest. Dermatol.* **111**, 941 (1998).
- 23) Lee, K. H., Han, S. I., Park, G. D., and Kwon, Y. E. : Evaluation of the herbal extract mixture for the effects of hair-regrowth compared to 3% minoxidil; Elogation of anagen priod on C3H mice. *Yahak Hoeji* **47**, 14 (2003).
- 24) Buhl, A. E., Waldon, D. J., Baker, C. A. and Johnson, G. A. : Minoxidil sulfate is the active metabolite that stimulates hair follicles. *J. Invest. Dermatol.* **95**, 553 (1990).