

C57BL/6N 생쥐에서 骨碎補 추출물을 이용한 發毛효과에 대한 실험적 연구

정석영 · 정일국 · 김대근 · 조한영 · 정한솔¹ · 이창현*

우석대학교 한의과대학 해부학교실, 1: 한방병리학교실

Experimental Studies on the Hair Growth Activity of *Drynariae Rhizoma* Extracts in C57BL/6N Mice

Suk Young Jung, IL Kook Jung, Dae Keun Kim, Han Young Jo, Han Sol Jung¹, Chang Hyun Lee*

Department of Anatomy, 1: Department of Oriental Pathology, College of Oriental Medicine, Woosuk University

Drynariae Rhizoma has been used for promotes mending of the sinews and bone, tonifies the kidney for such symptoms as weak low back and knees, and stimulates the growth of hair as a tincture for alopecia in oriental medicine. This experiment examined the effect of an acetone extracts of *Drynariae Rhizomas*(GSB-1), its EtoAc fraction(GSB-2) and n-BuOH fraction(GSB-3), on hair growth activity of the C57BL/6N mice after topical application to skin. First, We examined on hair growth activity of extracts of *Drynariae Rhizomas* compare to control and 1 % minoxidil groups. Second, We investigated on the number of hair follicle and mast cells after topical application of extracts of the *Drynariae Rhizomas* to skin for 16 day. Third, We investigated immunoreactive density of vascular endothelial growth factor(VEGF), protein kinase C- α (PKC- α) and stem(mast) cell factor(SCF) in skin of C57BL/6N mice by immunohistochemical methods. The results were as follows : Hair growth effect of acetone extracts of *Drynariae Rhizomas*, its EtoAc fraction and n-BuOH fraction was observed in 98 %, 96 % and 60 % in hair removed skin area in 16 day respectively. Immunoreactive density of VEGF in skin of GSB-1 group was weakly stained compare to control group in 10 day, But GSB-2 and GSB-3 groups were mildly stained in bulge and root sheath of skin. Immunolocalization of SCF antigens was observed weakly stained density in epidermis, bulge, stem cells and dermal papilla of control group. but in experimental group, immunoreactivity of SCF antigens was observed mildly stained density in bulge, epidermis and root sheath of GSB-1 group, heavily stained density in epidermis, bulge and root sheath of GSB-2 and GSB-3 groups to the hair removal skin of C57BL/6N mice on day 10. These experiment suggest that acetone extracts of *Drynariae Rhizomas* and its EtoAc fraction may be used for topical treatment of alopecia areata.

Key words : *Drynariae Rhizoma*, hair growth, VEGF, PKC- α , stem(mast) cell factor(SCF), immunohistochemistry

서 론

骨碎補는 수용골과에 속하는 다년생 부생 식물인 곡질(*Drynaria fortunei* (Kze.) J. Smith) 및 넝쿨고사리과의 식물인 대엽골쇄보와 해주골쇄보 등의 근경이다¹⁾. 골쇄보의 껍, 溫한 성미는 腎으로 귀경하여 血脈을 운행하며, 보신강골, 활혈 및 지혈하는 효능이 있어 腎虛에 의한 만성설사, 요통, 풍습비통, 치통, 이

* 교신저자 : 이창현, 전북 완주군 삼례읍 후정리 490, 우석대학교 한의과대학

· E-mail : chlee@woosuk.ac.kr, · Tel : 063-290-1559

· 접수 : 2007/02/20 · 채택 : 2007/04/02

명 및 골절을 치료하는데 이용되었다^{1,2)}. 골쇄보의 주요성분은 naringin, naringenin 및 fern-7-ene 등으로 알려졌다^{1,3)}.

골쇄보에 대한 최근의 연구는 streptomycin의 독성에 대한 보호효과⁴⁾, 생쥐 파골세포에서 cathepsin K 매개에 의한 뼈의 재흡수 억제⁵⁾, 파골세포의 활성화에 대한 뼈세포의 기능 촉진⁶⁾ 및 아교질분해와 뼈의 재흡수 억제기능⁷⁾에 대하여 보고하였다.

탈모는 임상적으로 많이 나타나는 피부질환으로서 주로 지루성 탈모와 원형탈모(斑禿) 두 종류로 분류하며, 원형탈모는 두피의 모낭은 정상이면서 모발이 갑자기 얼룩 모양으로 빠져, 속칭 “귀체두(鬼剃頭)”라 하였고, 심하면 두발이 전부 빠지는데 이

를 '전독(全秃)'이라 하였으며 더욱 심하면 전신의 모발이 모두 빠지는데 이를 '보독(普秃)'이라 하였다⁸⁾. 지루성 탈모는 "발주탈모(髮柱脫毛)"라 칭하는데, 청장년층 남성에서 흔히 보이며 두피가 기름져 마치 지방을 바른 것 같고 두피에 비듬이 많이 생기기도 하며 가려움이 심하여 오래되면 앞이마와 앞머리의 두발이 성글고 가늘어져 결국 대머리가 된다고 하였다⁹⁾.

탈모의 발병원인은 양방에서 국소감염⁹⁾, 내분비장애¹⁰⁾, 유전적 인자¹¹⁾ 및 자가면역¹²⁾ 등에 의하여 발병하며, 또한 정신적인 외상과 정서적 압박 등이 중요한 역할을 한다고 하였고¹³⁾, 한의학에서는 탈모에 대한 병의 원인을 朱¹⁴⁾는 血熱生風型, 氣血兩虛型, 肝腎不足型, 血瘀于裏型으로 분류하였으며 吳¹⁵⁾는 氣血不足型, 濕熱內蘊型, 陰液虧損型, 肝氣鬱結型으로 분류하였고, 曾¹⁶⁾은 心腎不交型, 肝腎不足型, 肺脾兩虛型, 肺胃積熱型으로 분류하였다.

탈모의 한의학적 치법은 내치법으로는 李¹⁷⁾가 탈모의 원인과 肝, 脾, 腎의 3가지 장부와 관계가 밀접한 생리병리에 의거, 환자의 탈발유형, 유발원인, 국부의 변화, 수반되어지는 증상 및 脉과 舌 등의 변화를 결합하여 益氣養血法, 疏肝化痰法, 滋腎養陰法, 清熱潤燥法으로 나누어 치료하였고, 외치법으로는 朱¹⁴⁾는 골쇄보(骨碎補)를 탈모 부위에 문지르거나, 生薑을 작은 조각으로 잘라 불에 쪄인 뒤 환부에 문지르거나, 매화침(梅花針)으로 환부를 두들겨서 모발의 성장을 촉진한다고 하였다.

탈모에 대한 국내 연구는 홍 등¹⁸⁾, 임 등¹⁹⁾, 송 등²⁰⁾이 탈모에 대한 문헌적인 고찰을, 金²¹⁾과 노 등²²⁾이 신응양진단(神應養眞丹)과 고삼 등의 추출물을 이용하여 모발의 성장 촉진에 관한 실험적인 연구결과를 보고하였다.

최근 한의학에서 탈모의 치료 방법은 피부의 국소적인 혈액 순환을 원활하게 하고, 모낭에 영양을 공급해주고 또한 휴지기모낭을 성장기 모낭으로 성장할 수 있도록 자극하는 방법이 이용되고 있으나, 탈모방지와 발모촉진에 유효한 약제에 대한 실험적인 연구는 미흡한 실정이다. 그래서 본 연구에서는 골쇄보가 피부질환인 원형탈모증의 외용제로 사용된 보고가 있어³⁾ 실험동물을 이용하여 실험적으로 발모효과를 관찰하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

1) 실험동물

실험동물은 체중 25 g 내외의 음성 6주령 C57BL/6N 정상생쥐 40마리를 이용하였으며 각 군에 8마리씩 배정하였다. 실험의 정확성을 위하여 모두 출생날짜가 유사한 것을 이용하였다.

2) 실험약제

(1) 약제

본 실험에 사용한 약제는 시중에서 구입한 중국산 약제로서 골쇄보 acetone 추출물은 약제 2 kg을 acetone 100 % 용매에 넣어 실온에서 1주일간 방치한 후에 여과과정을 거친 여액을 감압 농축기로 농축하였다. 농축액을 동결건조기를 사용하여 건조한 후 시료 64.28 g을 얻었다. 건조한 골쇄보 acetone 추출물 32.14 g을 EtoAc(ethyl acetate)와 n-BuOH로 용매 분획하여 동결건조

기를 사용하여 건조시켜 골쇄보 EtoAc분획층 8.9 g을 회수하였고, 골쇄보 n-BuOH 분획층 18.4 g을 회수하여 본 실험에 사용하였다.

(2) 검액의 조제

실험군은 acetone 추출물은 시료 8.8 g을, EtoAc 분획층은 시료 4.66 g을, n-BuOH분획층은 시료 8.8 g을 각각 50 % 에탄올 30 ml에 녹여 하루에 2회 200 μ l/1회를 피부에 도포하였다. 1 % minoxidil군은 3 % minoxidil(마이녹실, 현대약품)을 50 % 에탄올에 희석하여 1 % 용액으로 만들어 사용하였고, 대조군은 50 % 에탄올만을 동량 도포하였다.

2. 실험방법

1) 실험군 설정

실험군은 5개의 군으로 설정하여 대조군, 1 % minoxidil 투여군, 골쇄보 acetone 추출물(GSB-1)과 acetone 추출물 EtoAc(GSB-2)와 n-BuOH(GSB-3)로 분획한 추출물을 도포한 군으로 나누어 실험에 이용하였다.

2) 제모방법 및 도포방법

실험동물들은 털을 완전히 제거하기 전에 clipper를 이용하여 털을 깎은 후 5일동안 각각의 시료들을 이용하여 하루 2회씩 미리 피부에 도포하였다. 그 후 6일째에 제모제(비키로크립, 태극약품)를 이용하여 각군의 등쪽 피부에 도포하여 털을 완전히 제거한 후, 흐르는 물로 남은 제모제를 수세하였다. 피부에 도포하는 방법은 오전과 오후에 1회씩 피부에 도포하였고 30초정도 손으로 문질러 흡수를 촉진시켰다.

3) 관찰방법

(1) 피부의 육안적인 관찰

6일째 제모제를 사용하여 털을 완전히 제거한 날을 실험 1일째로 정하여 피부에서 일어나는 발모와 관련된 특징들을 16일째까지 관찰하면서 디지털카메라를 이용하여 3일, 10일, 14, 16일째에 촬영하였고 더욱 세밀한 관찰을 위하여 handscope(AT교역, X 50)를 이용하여 3일, 10일, 14일 및 16일째에 모낭이 형성된 부위와 발모부위를 촬영하였다.

(2) 피부의 광학현미경적 관찰

피부내 모낭의 수와 비만세포의 숫자 변화를 조직학적으로 관찰하기 위하여 약물 도포 후 10일째에 3마리씩 희생시켜 등쪽 피부의 발모된 부위를 척추선에 평행하게 절개하여 normal buffered formalin 용액으로 고정하였다. 고정후 일반적인 방법에 의하여 수세, 탈수과정을 거쳐 paraffin으로 포매하며, 포매후 7 μ m의 절편을 제작하여 H&E 염색을 시행하여 1000 μ m당 발생 중인 hair follicle의 수, 피부두께 및 조직의 변화를 관찰하였고, 비만세포 수의 변화를 관찰하기 위하여 toluidine blue 염색을 시행하였다. 또한 피부 조직내 여러가지 neuropeptide와 cytokine을 관찰하기 위하여 면역조직화학적 염색법을 이용하였다.

(3) 피부의 neuropeptide와 cytokine에 대한 면역조직화학적 염색 관찰

피부조직내 neuropeptide를 관찰하기 위하여 substance-P를 이용하여 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 면역조직화학적 염색을 위해 박절된 조직을 0.1M phosphate buffer(PB)로 세척한 후

조직 절편내에 내재되어 있을 과산화효소를 제거하기 위하여 0.3 % H₂O₂로 처리하고 1 % normal goat serum과 0.3 % triton X-100으로 1시간 처리하여 비특이성 항원의 반응을 제거하였다. 털의 성장과 관련된 여러가지 cytokine을 관찰하기 위하여 rabbit polyclonal antibody(Santa cruz)인 vascular endothelial growth factor(VEGF), protein kinase C- α (PKC- α), 그리고 stem(mast) cell factor(SCF)를 각각 1:100, 1:50, 1:50으로 희석한 1차항체를 조직절편에 떨어뜨려 실온에서 12시간 동안 반응시켰다. 이때 1차 항체의 희석은 0.1 M PB에 1 % normal goat serum(Vector Laboratories, Inc.)과 0.3 % Triton X-100 (Sigma)이 섞여 있는 것을 사용하였다. 그 후 조직절편들은 실온에서 15분간 2회 0.1 M PB로 세척하며 Hsu 등²³⁾의 방법에 따라 2차 항체인 1:200으로 희석된 biotinylated anti-rabbit IgG(Vector Laboratories, Inc.)에 실온에서 1시간 가량 반응시켰다. 다시 15분간 2회 0.1 M PB 수세과정을 거친 후 peroxidase가 표지된 ABC 용액에 담가 실온에서 1시간 가량 반응시켰다. 그 후 다시 0.1 M PB로 15분간 2회 수세하고 나서 30 mg의 3-3' diaminobenzidine를 150 ml의 0.1 M PB에 녹인 용액에서 5분간 반응시킨 후 과산화효소를 0.005 % 되게 첨가하여 갈색의 발색 반응을 약 5분간 시행하였다. 반응이 끝난 조직들은 다시 0.1 M PB로 여러차례 수세하고 hematoxylin으로 20초간 대조염색한 후 통상적인 방법에 따라 탈수와 투명화를 거친 후 permount로 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였다.

결 과

골쇄보 acetone 추출물과 여러 가지 분획물을 이용하여 제 모제를 사용하여 제모한 C57BL/6N 생쥐의 피부에 약 3주간 도포한 후 발모효과를 육안, 광학, 면역조직화학적 기법에 의하여 관찰한 결과는 다음과 같다.

1. 육안적인 관찰 소견(실험 10-16일째)

골쇄보 추출물(GSB-1)과 골쇄보 분획물인 GSB-2와 GSB-3를 생쥐피부에 도포한 후 육안적으로 관찰한 바 50 % 에탄올 용액을 피부에 도포한 대조군의 실험 1일째부터 10일째까지는 육안적인 발모현상은 관찰할 수 없었고, 11일째부터 목과 등부위의 피부가 회색의 반점형태로 미약하게 관찰된 경우가 8마리 가운데 4마리에서 관찰되었고, 나머지 4마리에서는 목과 등의 피부에서 육안적인 변화를 관찰 할 수 없었다. 1 % minoxidil을 피부에 도포한 실험대조군의 7일째부터 8마리 가운데 1마리에서 등의 피부가 회색으로 변하기 시작했으며 나머지 7마리에서는 육안적인 변화는 관찰 할 수 없었다. 그러나 실험 10일째에는 8마리 가운데 1마리에서 전체적으로 발모가 시작되었고, 나머지 7마리에서도 전체적으로 등의 피부가 검게 변하였으나 육안적인 발모현상은 관찰할 수 없었다.

GSB-1군의 실험 10일째에는 등 전체가 회색으로 변한 경우가 8마리 전체에서 관찰되었으며, 발모현상은 등의 일부분에서만 관찰되었다. GSB-2군에서는 8마리 가운데 7마리에서 전체적

으로 발모가 일어났으며, 1마리에서는 등의 일부분을 제외하고는 모든 부위에서 발모현상이 관찰되었다. GSB-3군의 실험 10일째에는 8마리 가운데 4마리에서 전체적으로 등의 피부가 회색으로 변하였으나 나머지 4마리에서는 등의 일부분의 피부에서만 회색으로 변하였으며, 일부 동물에서만 발모현상이 관찰되었다.

1) 실험 14일째

골쇄보 추출물(GSB-1)과 골쇄보 분획물인 GSB-2와 GSB-3를 생쥐피부에 도포한 후 실험 첫날부터 16일째까지 육안적으로 관찰한 바 50 % 에탄올 용액을 피부에 도포한 대조군의 14일째에는 8마리 가운데 2마리에서 반점형태로 일부분만 발모가 시작되었으며 6마리에서는 육안적인 변화를 관찰할 수 없었다(Fig. 1a, 1b). 1 % minoxidil을 피부에 도포한 실험대조군의 14일째에는 8마리 가운데 5마리에서 전체적으로 발모가 일어났으며 나머지 3마리에서는 일부분을 제외하고는 모두 발모현상을 관찰할 수 있었다. 제모된 목과 등부위 피부영역의 약 98%가 발모되었다(Fig. 2a, 2b).

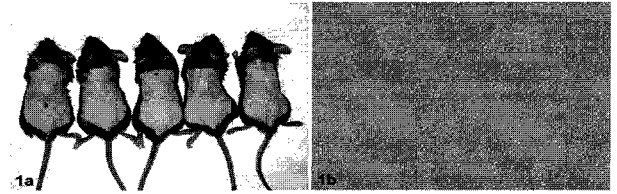


Fig. 1. a : Macroscopic observation after topical application of vehicle(50% EtOH) as control to the hair removed skin of C57BL/6N mice on day 14. b : Handscopic observation after topical application of vehicle(50% EtOH) as control to the hair removed skin of C57BL/6N mice on day 14.



Fig. 2. a : Macroscopic observation after topical application of 1% minoxidil as experimental control to the hair removed skin of C57BL/6N mice on day 14. Extensive hair growth activity was observed in 1% minoxidil group. b : Handscopic observation after topical application of 1% minoxidil as experimental control to the hair removed skin of C57BL/6N mice on day 14.

GSB-1군의 실험 14일째에는 등 전체에 발모가 된 경우가 8마리 가운데 5마리에서 관찰되었고, 3마리에서는 등의 일부분에서만 발모현상을 관찰할 수 있었다. 제모된 목과 등부위 피부영역의 약 80% 정도만 발모현상을 관찰할 수 있었다(Fig. 3a, 3b). GSB-2를 도포한 군의 실험 14일째에는 8마리 가운데 7마리에서 체적으로 발모가 일어났으며 1마리에서는 등의 일부분을 제외하고는 모두 발모되어 제모된 목과 등부위 피부영역의 약 95%가 발모되었다(Fig. 4a, 4b). GSB-3군의 실험 14일째에는 4/8마리에서 전체적으로 발모가 일어났으며 4/8마리에서는 등의 일부분에서만 발모되어 제모된 목과 등부위 피부영역의 약 50%가 발모되었다(Fig. 5a, 5b).

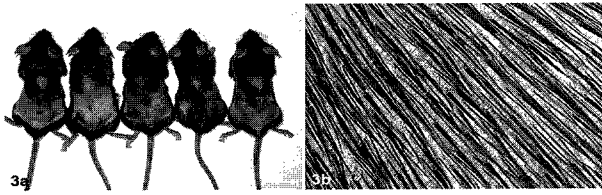


Fig. 3. a : Macroscopic observation after topical application of acetone extract(GSB-1) of *Rhizoma Drynariae* to the hair removed skin of C57BL/6N mice on day 14. b : Handscopic observation after topical application of acetone extract(GSB-1) of *Rhizoma Drynariae* to the hair removed skin of C57BL/6N mice on day 14.

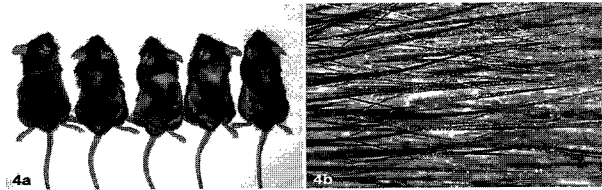


Fig. 4. a : Macroscopic observation after topical application of EtoAc fraction(GSB-2) of *Rhizoma Drynariae* to the hair removed skin of C57BL/6N mice on day 14. Extensive hair growing activity was observed in EtoAc fraction of *Rhizoma Drynariae*. b : Handscopic observation after topical application of EtoAc fraction(GSB-2) of *Rhizoma Drynariae* to the hair removed skin of C57BL/6N mice on day 14.

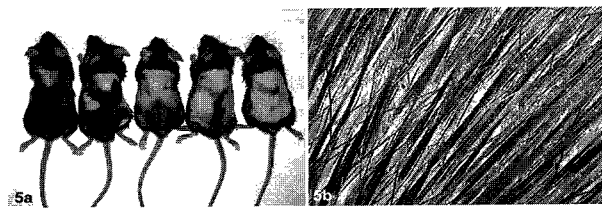


Fig. 5. a : Macroscopic observation after topical application of n-BuOH fraction(GSB-3) of *Rhizoma Drynariae* to the hair removed skin of C57BL/6N mice on day 14. b : Handscopic observation after topical application of n-BuOH fraction(GSB-3) of *Rhizoma Drynariae* to the hair removed skin of C57BL/6N mice on day 14.

2) 실험 16일째

골쇄보 추출물(GSB-1)과 골쇄보 분획물인 GSB-2와 GSB-3를 생쥐피부에 도포한 후 실험 1일째부터 16일째까지 육안적으로 관찰한 바 50 % 에탄올 용액을 피부에 도포한 대조군의 실험 16일째에는 8마리 가운데 3마리에서 반점형태로 극히 일부에서만 발모현상을 관찰 할 수 있었으며, 나머지 5마리에서는 등쪽의 피부 일부에서만 회색 반점을 띄었으나, 육안적인 발모현상은 관찰 할 수 없었다. 제모된 목과 등부위 피부영역 전체에 완전히 발모된 경우는 1예도 관찰할 수 없었으며, 약 5 %의 발모율을 나타내었다. 1 % minoxidil을 피부에 도포한 실험대조군의 실험 16일째에는 8마리 전체에서 제모된 목과 등부위 피부영역 전체에서 100 %의 발모현상을 관찰할 수 있었다. GSB-1군의 실험 16일째에는 등 전체에 발모된 경우가 8마리 전체에서 관찰할 수 있었으며, 제모된 목과 등부위 피부영역의 약 98 % 정도 발모되었다. GSB-2군의 실험 16일째에는 8마리 가운데 7마리에서 전체적으로 발모현상을 관찰 할 수 있었으며, 1마리에서는 등의 일부분을 제외하고는 모두 발모되어 제모된 목과 등부위 피부영역의 약 96 %

정도 발모현상을 관찰 할 수 있었다. GSB-3군의 실험 16일째에는 8마리 가운데 4마리에서 전체적으로 발모현상을 관찰할 수 있었으며 4마리에서는 등의 일부분에서만 발모현상을 관찰할 수 있었다. 제모된 목과 등부위 피부영역의 약 60 %가 발모되었다.

2. 일반적인 광학현미경적 관찰 소견

실험 10일째에 대조군(50 % 에탄올), 실험대조군(1 % minoxidil), GSB-1군(acetone 추출물), GSB-2(EtoAc분획층) 및 GSB-3(n-BuOH 분획층) 군에서 가장 많이 발모된 개체 2마리의 조직절편을 제작하여 H&E 염색을 시행하여 관찰한 바 대조군에서의 성숙한 모낭의 수는 관찰할 수 없었으며 모낭들은 진피층에서 직경 1-2 μm 정도의 작은 모낭이 진피층에서 형성하기 시작했으며, 아직 피하층까지는 자라지 못하였다. 피부의 평균 두께는 $252.5 \pm 14.5 \mu\text{m}$ 이었다. 실험대조군(1 % minoxidil 도포군)에서의 성숙한 모낭의 수는 7 ± 1.2 개 이었으며 여러단계의 발생중인 모낭의 수는 26 ± 4.4 개가 진피층과 피하층에서 관찰되었다. 피부의 평균 두께는 $483 \pm 20.8 \mu\text{m}$ 이었다. GSB-1군에서 성숙한 모낭의 수는 12.5 ± 3.5 개 이었으며 여러단계의 발생중인 모낭들이 23.6 ± 4.9 개가 피하층에서 관찰되었으며 성숙한 모낭은 진피층 1/3까지 성장하였다. 피부의 평균두께는 $454 \pm 24.4 \mu\text{m}$ 이었다. GSB-2군에서 성숙한 모낭의 수는 7.3 ± 3.2 개이었으며 발생중인 모낭들이 22.6 ± 1.2 개가 관찰되었다. 피부의 평균두께는 $686 \pm 37.7 \mu\text{m}$ 로 실험군 중에서 가장 두꺼웠다. GSB-3군에서 성숙한 모낭의 수는 4.8 ± 0.9 개 이었으며 발생중인 미성숙한 모낭들이 18.6 ± 3.5 개 관찰 되었다. 피부의 평균두께는 $601.6 \pm 38.3 \mu\text{m}$ 이었다.

실험 14일째에 대조군에서의 성숙한 모낭의 수는 2 ± 0.4 개 이었으며 발생중인 모낭들은 진피층에서만 관찰되었다. 피부의 평균 두께는 $176.4 \pm 15.1 \mu\text{m}$ 이었다. 실험대조군에서의 성숙한 모낭의 수는 9.2 ± 2.2 개 이었으며 발생중인 모낭에서 피부를 뚫고 발모가 시작되었다. 피부의 평균 두께는 $491.6 \pm 16.2 \mu\text{m}$ 이었다. GSB-1군에서 성숙한 모낭의 수는 7.5 ± 2.3 개 이었으며 여러 단계의 발생중인 성숙한 모낭들이 피하층에서 관찰되었고 피부를 뚫고 발모가 시작됨을 알 수 있었다. 피부의 평균두께는 $654 \pm 24.7 \mu\text{m}$ 이었다. GSB-2군에서 성숙한 모낭의 수는 5.6 ± 1.5 개 이었으며 발생중인 모든 모낭에서 피부를 뚫고 발모가 진행되었다. 피부의 평균두께는 $671.7 \pm 26.4 \mu\text{m}$ 이었다. GSB-3군에서 성숙한 모낭의 수는 7.0 ± 1.6 개 이었으며 발생중인 일부 모낭에서 피부를 뚫고 발모가 시작되었으며, 피부의 평균두께는 $646.7 \pm 25.3 \mu\text{m}$ 이었다.

3. 비만세포의 숫적 변화

실험 10일째와 14일째 비만세포의 숫적 변화를 관찰하기 위하여 toluidin blue 염색을 시행하였다. 10일째 대조군의 비만세포의 수(전체적인 비만세포/탈과립 된 비만세포의 수)는 $11.6 \pm 2.5 / 5.8 \pm 1.5$ 개였으며, 1 % minoxidil을 도포한 실험대조군에서는 $11.1 \pm 3.1 / 3.4 \pm 1.3$ 개가 관찰되었다. 실험군인 GSB-1군은 $8.5 \pm 2.4 / 0.9 \pm 0.4$ 개, GSB-2군은 $9.1 \pm 2.3 / 2.8 \pm 0.8$ 개, 그리고 GSB-3군은 $11.8 \pm 5.6 / 3.8 \pm 1.9$ 개가 관찰되었다. 실험 14일째 대조군의 비만세포의 수(전체적인 비만세포/탈과립 된 비만세포의 수)는

5.5±2.5/1.1±0.6개였으며, 1 % minoxidil을 도포한 실험대조군에서는 11.3±2.4/1.3±1.1개가 관찰되었다. 실험군인 GSB-1군은 8.3±2.5/2.4±1.6개, GSB-2군은 5.2±1.3/0.5±0.7개 그리고 GSB-3군은 8.2±3.5/0.9±1.0개가 관찰되었다.

4. 피부조직내 VEGF, PKC-α 및 SCF 에 대한 면역조직화학적 관찰 소견

1) 혈관내피세포 성장인자(VEGF)

혈관내피세포 성장인자에 대한 면역반응은 대조군에서는 표피, bulge, stem cell, 입모근 및 진피의 유두에서 강한 면역반응을 나타내었고, 1 % minoxidil을 도포한 실험대조군에서는 표피, stem cell, 성장기중의 모간 주위의 내, 외모근초 및 모구(hair bulb)에서 강한 면역반응을 나타내었다. GSB-1군에서는 전체적으로 미약한 반응을 보였으나 GSB-2군에서는 bulge와 내, 외모근초에서 중등도의 면역반응을 나타내었고, GSB-3군에서는 표피, bulge 및 내, 외모근초에서 중등도의 면역반응을 나타내었다.

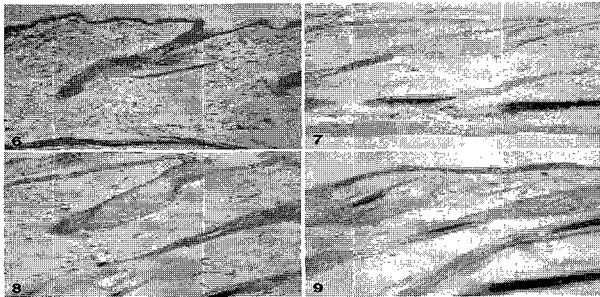


Fig. 6. Immunolocalization of VEGF antigens was observed heavy stained density in epidermis, bulge, stem cells and dermal papilla of control group(6), weakly stained density in epidermis, cutaneous trunci m. of acetone extract(GSB-1, 7), mildly stained density in bulge and root sheath of EtoAce fraction(GSB-2, 8) and n-BuOH fraction (GSB-3, 9) of *Rhizoma Drynariae* to the hair removed skin of C57BL/6N mice on day 10(X 200).

2) Protein kinase C-α(PKC-α)

PKC-α에 대한 면역반응은 대조군은 표피, bulge, stem cell, 입모근 및 진피의 유두에서 강한 면역반응을 나타내었고, 1 % minoxidil을 도포한 실험대조군에서는 표피, stem cell, 성장기중의 모간 주위의 내, 외모근초 및 모구(hair bulb)에서 강한 면역반응을 나타내었다. GSB-1군은 bulge와 내, 외모근초에서 강한 면역반응을 나타내었으나 GSB-2군과 3군은 표피, bulge 및 성장기 중의 내, 외모근초에서 중등도의 면역반응을 나타내었다.

3) Stem cell factor(SCF)

SCF에 대한 면역반응은 대조군은 표피, bulge, stem cell 및 진피의 유두에서 미약한 면역반응을 나타내었고, 1 % minoxidil을 도포한 실험대조군에서는 성장기 말기의 외모근초에서 강한 면역반응을 나타내었고, 그 외의 부위의 표피, stem cell, 성장기 중의 모간 주위의 내, 외모근초 및 모구(hair bulb)에서는 중등도의 면역반응을 나타내었다. GSB-1군과 2군에서는 bulge와 내, 외모근초에서 중등도의 면역반응을 나타내었으나, GSB-3군에서는

표피, bulge 및 성장기 중의 내, 외모근초에서 강한 면역반응을 나타내었다.

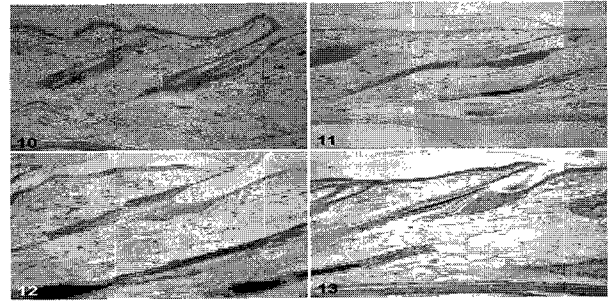


Fig. 7. Immunolocalization of PKC-α antigens was observed heavy stained density in epidermis, bulge, stem cells and dermal papilla of control group(10), bulge and root sheath of acetone extract(GSB-1, 11) and EtoAc fraction(GSB-2, 12) and n-BuOH fraction (GSB-3, 13) of *Rhizoma Drynariae* to the hair removed skin of C57BL/6N mice on day 10(X 200).

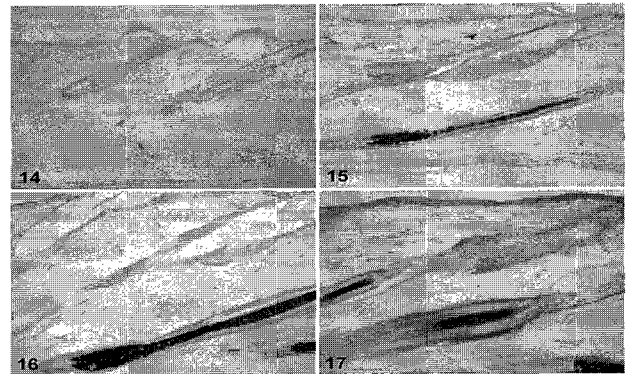


Fig. 8. Immunolocalization of SCF antigens was observed weakly stained density in epidermis, bulge, stem cells and dermal papilla of control group(13), mildly stained density in bulge epidermis and root sheath of acetone extract(GSB-1, 14), heavily stained density in epidermis, bulge and root sheath of EtoAc fraction(GSB-2, 15) and n-BuOH fraction (GSB-3, 16) of *Rhizoma Drynariae* to the hair removed skin of C57BL/6N mice on day 10(X 200).

고찰

모鬚은 동물에서는 몸을 보호하는 중요한 기능을 하나 사람에서는 머리나 일부 부위를 제외하고는 대부분 퇴화된 피부부속 기관이다. 사람의 모발은 몸을 보호하는 작용이외에도 감각기관이나 미용적인 면에서 더 중요한 기능을 하고있다. 최근에는 피부생물학이 발전함에 따라 모발의 미용적인 측면보다도 여러 가지 실험동물 모델(transgenic mice나 knockout mice)을 통한 유전적인 기법의 활성화로 종래의 알지 못한 부분이 밝혀지고 있으며, 모발은 여러 층으로 구성된 다양한 종류의 세포가 독특한 주기를 가지고 있어 다양한 피부분야의 연구에 관심을 갖고있다. 모발은 피부의 발생과 함께 생기며 모낭은 표피에 있는 종자층이 증식되어 진피로 확장하여 모낭(hair follicle)이나 모아(hair bud)의 심층이 곧 클럽모양의 모구(hair bulb)를 형성하며 모구의 상피세포가 종자기질을 이룬 후 털로 자라게 된다. 모구는 작

은 중간엽 털유두(mesenchymal hair papilla)에 의해 곧 합입되어 모구 주위세포는 뿌리상피집(epithelial root sheath)을 형성하며, 그 주위를 둘러싸고 있는 중간엽세포는 뿌리진피집(dermal root sheath)으로 분화한다고 하였다²⁴⁾. 이러한 모유두는 3-5년의 성장기(anagen), 1-2개월의 퇴화기(catagen), 3-5개월의 휴지기(telogen) 및 발생기(new anagen stage)의 4주기인 모발성장주기를 갖고 있다²⁵⁾.

모발의 성장주기별로 일어나는 탈모를 분류하면 휴지기성 탈모와 성장기성 탈모로 나눌 수 있는데 휴지기성 탈모는 남성형 탈모, 산후에 빠지는 탈모, 지루성 탈모 및 내분비질환에 의한 탈모를 말하며 성장기성 탈모는 원형탈모, 반흔성탈모 및 두부백선에 의한 탈모를 말한다²⁶⁾.

탈발(脫髮)과 관련된 기록은 《황제내경》에는 발타(髮墮)²⁷⁾, 발락(髮落)²⁸⁾, 모발초(毛髮焦)²⁹⁾, 발거(髮去)³⁰⁾ 등으로 수록되어 있으며, 《주후비급방》에 수발탈독(鬚髮髮禿)³¹⁾이라 하였다. 《제병원후론》³²⁾에서는 수발독락후(鬚髮禿落候), 귀지두후(鬼頭候), 모발불생후(毛髮不生候), 백독후(白禿候) 등의 증후명이 나오며, 이 중 '귀지두후(鬼頭候)'의 증상은 '풍사(風邪)가 머리에 있어 허한 쪽에 독락(禿落)을 발하고 기육(肌肉)이 枯死하며, 동전이나 손가락 크기로 머리가 나지 않으며 가렵지는 않다고 하였는데 오늘날의 원형탈모증과 흡사하며, '수발독락후(鬚髮禿落候)'의 증상은 오늘날의 남성형 탈모와 흡사하다. 이렇듯 한의학에서 다양한 탈모발(脫毛髮)의 병명 기록이 존재하는 것은 탈모발병이 나타나는 양상의 다양성과 본 질병의 치료가 용이하지 않았던 점과 유관하다.

한의학적으로 임상에서 가장 많이 나타나는 질환은 지루성 탈모와 원형탈모증으로서 지루성 탈모는 "발주탈발(髮蛙脫髮)"이라 하는데 청장년층 남성에서 흔히 보인다고 하였고, 증상은 두피가 기름져서 마치 지방을 바른 것 같고, 두피에 비듬이 많이 생기기도 하며, 가려움이 심하여 오래되면 앞머리와 앞머리의 두발이 성글고 가늘어져서 결국에는 대머리가 된다고 하였다. 또한 원형탈모증은 속칭 "귀체두(鬼剃頭)"라 하는데 갑자기 머리에 무염증성의 국한성 탈모가 나타나는데 이를 "유풍탈발(油風脫髮)"이라 하였고, 탈모 부위의 두피는 평활하고 광택이 있으며, 원형 또는 타원형이고, 심한 경우는 모든 모발이 다 빠지고, 수염과 눈썹까지 빠지므로 '전독(全禿)'이라 하였다³³⁾.

이러한 증상의 원인은 秦³³⁾은 지루성 탈모는 濕熱內蘊 때문에 風邪를 外受하여 濕熱이 머리 꼭대기로 上蒸되고, 肌膚에 쌓여 모발이 營養을 잃게 되므로 '濕熱型'이라 하였고, 원형탈모는 血虛風燥 때문에 모발이 滋養받지 못하게 된 것이라 하여 '血燥型'이라 하였는데, 이는 대개 肝腎의 虛虧로 陰血이 부족해져 血虧가 氣虛를 유발하고 腠理가 不固해져 風邪가 허한 틈을 타 들어와 風盛하여 血燥해져서 모발이 영양을 잃게 되어 빠지게 된다고 하였다.

탈발(脫髮)의 치료는 내치법과 외치법으로 나누어 치료하는데 그 중 외치법으로 除³⁴⁾는 골쇄보, 감잠, 홍화 및 백지를 같은 비율로 처방한 생발정(生髮靛)을 탈발된 곳에 도포하여 사용하였고, 李³⁵⁾는 白蘚皮 30 g, 鮮側柏葉 30 g, 골쇄보(毛薑) 15 g, 生山

植 15 g, 白芷 10 g을 95 % 酒精 500 ml에 1주일간 담그고 그 액을 취하여 1일 1-2회 환부에 바른다고 하였다.

탈모 및 발모와 관련된 여러 가지 요인들은 매우 복잡 다양하기 때문에 정확한 기전을 밝히기가 매우 어렵고, 탈모관련 실험동물 모델을 만들기 어려워 탈모기전 규명과 탈모치료제를 개발하는 데에도 어려움이 있었다.

국내에서 탈모와 관련된 실험적 연구는 김 등³⁶⁾의 탈모에 응용되는 신응양진단(神應養眞丹)의 효능에 관한 실험적 연구와 이 와 문³⁷⁾과 이 등³⁸⁾의 상백피 추출물 및 상백피 복합물의 육모촉진 효과에 관한 연구, 노와 노³⁹⁾가 고삼추출물을 이용한 모발성장 촉진에 관한 시험적 연구에 대하여 보고하였고, 최 등⁴⁰⁾이 수종의 한약재를 이용하여 모발성장 효과를 관찰하였으며, 강 등⁴¹⁾이 여러가지 한약재를 이용하여 모발성장과 촉진에 미치는 효과를 실험적으로 탐색하였다.

본 실험에서는 골쇄보 acetone 추출물(GSB-1)과 acetone 추출물을 EtoAc 분획층(GSB-2)과 n-BuOH 분획층(GSB-3)으로 나누어 추출하여 제모제를 사용하여 제모한 C57BL/6N 생쥐 모델의 피부에 약 3주간 도포한 후 발모의 효과를 육안, 광학 및 면역조직화학기법에 의한 변화를 관찰하여 골쇄보의 발모효과를 실험적으로 입증하고자 시도하였다.

본 실험에서 GSB-1, GSB-2 및 GSB-3을 도포한 후 실험 1일째부터 16일째까지 육안적으로 관찰한 바 GSB-1군의 실험 16일째에는 등 전체에 발모된 경우가 8마리 전체에서 관찰되었으며, 제모된 목과 등부위 피부영역의 약 98 %가 발모되었고, GSB-2군의 실험 16일째에도 8마리 가운데 7마리에서 전체적으로 발모가 일어나 제모된 목과 등부위 피부영역의 약 96 %가 발모되었다. 본 실험의 실험 14일째에 광학현미경적으로 관찰한 바 GSB-1군의 성숙한 모낭의 수는 7.5±2.3개 이었으며 여러 단계의 발생중인 성숙한 모낭들이 피하층에서 관찰되었고 피부를 뚫고 발모가 시작됨을 알 수 있었다. 피부의 평균두께는 654±24.7 μm이었다. GSB-2군의 성숙한 모낭의 수는 5.6±1.5개 이었으며 발생중인 모든 모낭에서 피부를 뚫고 발모가 진행되었다. 피부의 평균두께는 671.7±26.4 μm이었다. GSB-3군의 성숙한 모낭의 수는 7.0±1.6개 이었으며 발생중인 일부 모낭에서 피부를 뚫고 발모가 시작되었으며, 피부의 평균두께는 646.7±25.3 μm이었다. 이상의 실험결과로 모든 골쇄보 추출물과 분획층에서 대조군에 비하여 모낭의 성장이 촉진되었음을 알 수 있었다.

골쇄보의 기능은 염증, 고지혈증, 동맥경화 및 골다공증과 뼈의 재흡수와 같은 부인과질환에 효과가 있다고 보고되었고⁴²⁾, 특히 정형외과질환과 같은 골절된 뼈를 치료하는데도 이용되었다. 실험적인 연구는 배양중인 병아리 배아의 뼈원기(bone primordium)의 빠른 골화와 단백질(proteoglycan)의 합성을 촉진시키며⁴³⁾, 흰쥐 골아세포에서의 항산화 효과와 병적인 상태에서의 뼈의 회복을 촉진시킨다고 하였다⁴⁴⁾. 이러한 기능들은 골쇄보의 기능 중에 항염, 항균 및 혈지를 낮추는 기능에 의하여 여러 가지 골질환의 개선을 촉진한다고 하였다⁴⁵⁾.

한방 탈모 외치법은 피부의 국소적인 혈액순환을 원활하게 하고, 모낭에 영양을 공급해주고 또한 휴지기모낭을 성장기 모낭

으로 성장할 수 있도록 자극하는 방법 등이 이용되고 있는데 상용하는 약물로는 반모, 빙편, 장뇌, 단삼, 당귀, 홍화, 천초, 측백엽, 골쇄보 및 고삼 등으로 알려졌다⁴⁶⁾. 또한 주류, 辣椒류 및 자극성 약물들을 많이 응용하여 혈액의 순환을 촉진 하며, 특히 혈액 순환을 촉진하기 위하여 통규혈탕 원방에서 황주를 사용한다고 하였다⁴⁹⁾. 황 등⁴⁷⁾은 關羊花 125 g과 骨碎補 200 g을 75 % 에탄올 125 ml에 일주일간 담궈 여과한 액을 도포한다고 하였다.

본 실험의 결과도 골쇄보 추출물을 도포한 후 活血化癥기능과 혈지를 낮추어주는 기능에 의하여 혈액의 점도를 낮추어 맑게 함으로써 혈액순환을 개선하여 모발에 영양공급과 성장작용을 촉진시킬 것으로 사료되었다.

세포의 성장과 분화에 필수적인 요소는 여러 가지 cytokine에 의하여 일어나며 털의 성장에 중요한 역할을 하는 cytokine 들에는 혈관내피세포 성장인자(vascular endothelial growth factor, VEGF), protein kinase C- α (PKC- α), Stem cell factor(SCF) 등이 관여한다. 모낭과 모구의 진피유두에는 follicular stem cell 들이 존재하므로 많은 혈관과 신경들이 분포하고 최적의 성장환경을 만들어 주기위하여 다양한 cytokine을 분비한다. 털을 지배하는 혈관들은 털의 성장주기에 따라 변화하는데 성장기에서 최대로 분포하며, 퇴화기에는 대부분의 모세혈관이 붕괴되거나 사라진다. 털의 성장주기별 혈관분포의 변화는 혈관재생에 관여하는 VEGF에 의하여 내피세포의 활성을 유도하거나 증식 및 이주에 관여하며 혈관재생에 필요한 matrix proteolysis와 관련된 protease 생산을 자극하고 혈관투과성을 항진시키는데⁴⁸⁾, 사람에게서 모낭의 외모근초의 각질세포에서 관찰된다고 하였다⁴⁹⁾.

본 실험의 혈관내피세포 성장인자에 대한 면역반응은 대조군에서는 표피, bulge, stem cell, 입모근 및 진피의 유두에서 강한 면역반응을 나타내었으나 GSB-1군에서는 전체적으로 미약한 반응을 보였으나 GSB-2군에서는 bulge와 내, 외모근초에서 중등도의 면역반응을 나타내었고, GSB-3군에서는 표피, bulge 및 내, 외모근초에서 중등도의 면역반응을 나타내었다. 이상의 실험결과로 VEGF는 성장기 초기의 대조군에서는 강하게 나타났으나, 골쇄보 추출물과 분획층에서는 대조군에 비하여 성장기 중기나 말기로 이행하는 단계이므로 VEGF에 대한 면역반응은 미약하게 염색 된 것으로 사료되었다.

Protein kinase C- α (PKC- α)는 생쥐의 털 성장에 중요한 역할을 하며, PKC활성인자, 털을 뽑거나 알려지피부염과 같은 피부 자극시 털의 성장을 촉진하며 털의 성장기 중기와 말기에 피부 내 농도가 증가하며 퇴행기로 이행하면서 감소한다고 하였다. 이러한 cytokine의 증가는 일부 피부 melanogenesis의 조절을 통하여 모낭의 성장을 촉진시키며 털의 성장을 유지시킨다고 하였고, 주로 털의 외모근초의 각질세포에서 과발현 된다고 하였다⁵⁰⁾. 본 실험의 PKC- α 에 대한 면역반응은 대조군에서는 표피, bulge, stem cell, 입모근 및 진피의 유두에서 강한 면역반응을 나타내었으나 GSB-1군에서는 bulge와 내, 외모근초에서 강한 면역반응을, GSB-2군과 3군에서는 표피, bulge 및 성장기 중의 내, 외모근초에서 중등도의 면역반응을 나타내었다. 본 실험에서 대조군에 비하여 실험군에서 면역반응이 약하게 염색된 것은 대조군에 비하

여 모낭의 성장단계가 빠르기 때문인 것으로 사료되었다.

Stem cell factor(SCF)는 Kit-tyrosine kinase receptor를 가진 피부의 비만세포와 melanocyte의 성숙과 증식을 조절하는 물질로서 상피에서 유래한 또는 간엽(mesenchyme)에서 유래한 SCF에 반응을 한다. 이러한 인자들은 생장기 모낭에서 강한 면역반응을 나타내며, 주로 색소침착부위나 진피유두에 강한 양성반응을 나타낸다 하였고, 털의 성장주기에 의존적으로 강하게 반응을 한다고 하였다⁵¹⁾. SCF에 대한 면역반응은 대조군에서는 표피, bulge, stem cell 및 진피의 유두에서 미약한 면역반응을 나타내었고, GSB-1군과 2군에서는 bulge와 내, 외모근초에서 중등도의 면역반응을 나타내었으나, GSB-3군에서는 표피, bulge 및 성장기 중의 내, 외모근초에서 강한 면역반응을 나타내었다. 이상의 결과는 실험군인 골쇄보 추출물과 분획물이 대조군에 비하여 모발의 성장단계가 빠르므로 강한 면역반응을 나타낸 것으로 사료되었다.

이상의 결과로 골쇄보 추출물과 분획물의 도포에 의하여 혈지를 낮추는 기능에 의한 혈액순환의 개선에 의하여 모발의 성장을 촉진할 것으로 사료되었고, 성장기에서 퇴행기로의 빠른 모낭의 성장에 의하여 대조군과 면역반응이 상이하게 관찰된다고 사료되었다.

결 론

골쇄보를 acetone으로 추출한 추출물(GSB-1)을 도포한 군과, 이 추출물을 다시 EtoAc로 분획한 층(GSB-2)과 n-BuOH로 분획한 층(GSB-3)으로 나누어 제모제를 사용하여 제모한 C57BL/6N 생쥐 모델의 피부에 약 3주간 도포한 후 발모의 효과를 육안, 광학, 면역조직화학기법에 의하여 관찰한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

실험 14일째에 골쇄보 acetone 추출물 도포군(GSB-1)에서는 등 전체에 발모가 된 경우가 8마리 가운데 5마리에서 관찰되었고, 제모된 목과 등부위 피부영역의 약 80 % 정도 발모현상이 관찰되었다. 골쇄보 EtoAc 분획층 도포군(GSB-2)에서는 8마리 가운데 7마리에서 전체적으로 발모가 일어났으며, 제모된 목과 등부위 피부영역의 약 95 %가 발모되었다. 골쇄보 n-BuOH분획층 도포군(GSB-3)에서는 8마리 가운데 4마리에서 전체적으로 발모가 일어났으며, 제모된 목과 등부위 피부영역의 약 50 %가 발모되었다.

실험 16일째에 GSB-1군에서는 등 전체에 발모가 된 경우가 8마리 전체에서 관찰되었으며, 제모된 목과 등부위 피부영역의 약 98 % 정도 발모되었다. GSB-2군에서는 8마리 가운데 7마리에서 전체적으로 발모가 일어났으며 제모된 목과 등부위 피부영역의 약 96 %가 발모되었다. GSB-3군에서는 8마리 가운데 4마리에서 전체적으로 발모가 일어났으며 제모된 목과 등부위 피부영역의 약 60 %가 발모되었다.

실험 14일째에 GSB-1군의 성숙한 모낭의 수는 7.5±2.3개 이었으며 여러 단계의 발생중인 성숙한 모낭들이 피하층에서 관찰되었고 피부를 뚫고 발모가 시작됨을 알 수 있었다. 피부의 평균 두께는 654±24.7 μ m이었다. GSB-2군의 성숙한 모낭의 수는

5.6±1.5 개이었으며 발생중인 모든 모낭에서 피부를 뚫고 발모가 진행되었다. 피부의 평균두께는 671.7±26.4 μm이었다. GSB-3군의 성숙한 모낭의 수는 7.0±1.6개이었으며 발생중인 일부 모낭에서 피부를 뚫고 발모가 시작되었으며, 피부의 평균두께는 646.7±25.3 μm이었다.

혈관내피세포 성장인자에 대한 면역반응은 GSB-1군에서는 전체적으로 미약한 반응을 보였으나 GSB-2군에서는 bulge와 내,외모근초에서 중등도의 면역반응을 나타내었고, GSB-3군에서는 표피, bulge 및 내, 외모근초에서 중등도의 면역반응을 나타내었다. PKC-α에 대한 면역반응은 GSB-1군에서는 bulge와 내, 외모근초에서 강한 면역반응을 나타내었으나 GSB-2군과 GSB-3군에서는 표피, bulge 및 생장기 중의 내, 외모근초에서 중등도의 면역반응을 나타내었다. Stem cell factor에 대한 면역반응은 GSB-1군과 GSB-2군에서는 bulge와 내, 외모근초에서 중등도 면역반응을 나타내었으나, GSB-3군에서는 표피, bulge 및 생장기 중의 내, 외모근초에서 강한 면역반응을 나타내었다. 이러한 실험결과로 골쇄보 acetone 추출물과 EtoAc 분획층은 제모한 생쥐의 털성장을 촉진시키는 양모효과가 있음을 실험적으로 입증한 결과라고 사료되었다.

감사의 글

본 연구는 2004년도 학술진흥재단의 지원(KRF-2004-002-E00189)에 의하여 연구되었습니다.

참고문헌

1. 中藥大辭典編纂委員會. 完譯中藥大辭典. 第9卷, 鼎談. pp 305-310, 1997.
2. 鄭虎占, 董澤宏, 余靖. 中藥現代研究與應用. 제4권, 學苑出版社. pp 3328-3344, 1998.
3. Bensky, D., Gamble, A. Chinese herbal medicine, Materia Medica. Eastland press. p 350, 1986.
4. 박상면, 이종화, 이강창, 양현웅, 이병찬, 이정현, 정종길, 서부일, 강영성, 김경수, 황대룡, 김대한, 신민교, 송호준. 골쇄보가 streptomycin으로 손상된 생쥐의 배양 섬유모세포에 미치는 영향. 대한보초학회지 18: 7-13, 2003.
5. Jeong, J.C., Kang, S.K., Youn, C.H., Jeong, C.W., Kim, H.M., Lee, Y.C., Chang, Y.C., Kim, C.H. Inhibition of Drynariae Rhizoma extracts on bone resorption mediated by processing of cathepsin K in cultured mouse osteoclasts, International Immunopharmacology 3: 1685-1697, 2003.
6. Sun, J.S., Lin, C.Y., Dong, G.C., Sheu, S.Y., Lin, F.H., Chen, L.T., Wang, Y.J. The effect of Gu-Sui-Bu(Drynaria fortunei J. Sm) on bone cell activities. Biomaterials 23: 3377-3385, 2002.
7. Hong, S.N., Jeong J.C. Effects of complex extracts having Drynariae Rhizoma on suppression of collagenolysis and bone resorption in mouse calvarial osteoblasts. 동국한의학 연구논문집 9: 179-191, 2000.

8. 李元文, 張韋川. 名醫臨證經驗, 北京, 人民衛生出版社 pp 572-622, 2001.
9. Muller, H.K., Rook, A.J., Kubba, R. Immunohistology and autoantibody studies in alopecia areata. Br J Dermatol 102: 609-610, 1980.
10. Bergfeld, W. Diffuse hair loss in women. Cutis 22: 190-195, 1987.
11. Selmanowilz, V., Victor, S., Warburton, D., Orentreich, N. Fingerprints arches in alopecia areata. Arch Dermatol 110: 570-571, 1974.
12. Friedman, P.S. Alopecia areata and auto-immunity. Br J Dermatol 105: 153-157, 1981.
13. Toback, C., Ajkunar, S. The emotional disturbances underlying alopecia areata, alopecia totalis and trichotillomania. Child Psychiatry Hum Dev 10: 114-117, 1979.
14. 朱仁康. 脫髮證治. 中醫雜誌 2(12):46, 1986.
15. 吳熙. 脫髮的辨證論治. 福建中醫學 1: 16-19, 1981.
16. 曾讓言. 辨證分型治療脫髮64例的臨床體會. 江蘇中醫雜誌 3(4):23-24, 1982.
17. 李治軍. 脫髮性皮膚病的辨證論治的探討. 陝西中醫學院學報 14: 5, 1991.
18. 홍석훈, 노석선. 모발탈락의 병인 및 치료법에 대한 문헌적 고찰. 외관과학회지 9(1):43-65, 1996.
19. 임사비나, 최규동, 김수경. 탈모에 대한 동서의학적 고찰. 경산대학교 제한동의학술원 논문집 4(1):699-710, 1999.
20. 송순기, 이명중. 안드로겐성 탈모증의 두피재활에 관한 문헌적 고찰. 한의정보학회지 5(1):162-176, 1999.
21. 김소영, 김중호, 채병윤. 탈모에 응용되는 神應養眞丹의 효능에 관한 실험적 연구. 외관과학회지 4(1):43-58, 1991.
22. 노현찬, 노석선. 苦蔘추출물이 모발성장 촉진 및 면포억제에 미치는 영향. 대한안아미비인후피부과학회지 15(1):96-126, 2002.
23. Hsu, S.M., Raine, L., Fanger, H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex(ABC) in immunoperoxidase techniques: A comparison between ABC and unlabeled antibody(PAP) procedures. J Histochem Cytochem 29: 577-580, 1981.
24. 고재승 외 19인. 인체발생학, 5판, 정문각. p 483, 1996.
25. 최근희 외 11인. 모발과학, 수문사. pp 36-38, 2001.
26. 최근희 외 11인. 모발과학, 수문사. pp 138-140, 2001.
27. 金達鎬. 黃帝內經注解補注素問. 素問·上古天真論, 醫聖堂. p 14, 2001.
28. 金達鎬. 黃帝內經注解補注素問. 素問·上古天真論, 醫聖堂. p 18, 2001.
29. 金達鎬. 黃帝內經注解補注素問. 素問·五藏生成論, 醫聖堂. p 236, 2001.
30. 金達鎬. 黃帝內經注解補注素問. 素問·五藏生成論, 醫聖堂. p 236, 2001.
31. 葛洪. 肘後備急方, 中國醫學大系 734권, 驪江出版社. p 500, 1995.
32. 丁光迪. 諸病源候論校注, 人民衛生出版社. pp 763-772, 1991.
33. 秦漢現. 脫髮證治, 中醫雜誌 27(12): 46, 1986.

34. 除漢章. 脫髮證治, 中醫雜誌 27: 47, 1986.
35. 李林. 實用中醫皮膚病學, 北京, 中國考籍出版社, pp 60-61, 1998.
36. 김소영, 김중호, 채병윤. 탈모에 응용되는 신응양진단의 효능에 관한 실험적 연구. 외관과학회지 4(1):43-58, 1991.
37. 이희삼, 문재유. Cytarabine으로 유도된 탈모증에 대한 상백피 추출물의 육모촉진 효과. 약학회지 44(1):66-70, 2000.
38. 이희삼, 윤성중, 문윤기, 문재유. 탈모증에 대한 상백피 복합물의 모발성장 효과. 한잠학지 42(2):83-85, 2000.
39. 노현찬, 노석선. 고삼추출물이 모발성장 촉진 및 면포억제에 미치는 영향. 대한안아미비인후피부과학회지 15(1):96-126, 2002.
40. 최웅, 최정화, 김종한. 수종의 한약재가 모발성장에 미치는 영향. 대한안아미비인후피부과학회지 15(2):80-103, 2002.
41. 강학천, 이수형, 김남권, 임홍진, 황충연. In vivo와 in vitro 평가모형을 이용한 한약추출물의 모발성장 및 촉진에 미치는 실험적 연구. 대한안아미비인후피부과학회지 15(2):53-79, 2002.
42. Shi, X.C. Chinese-English terminology of traditional chinese medicine, China, Human Science Publishing Co. pp 71-98. 1983.
43. Ma, K.C., Zhu, T.Y., Wang, F.X. Stimulative effects of gusuibu(*Drynaria baronii*) injection on chick embryo bone primordium calcification in vitro. Am J Chin Med 24: 77-82, 1996.
44. Liu, H.C., Chen, R.M., Jian, W.C., Lin, Y.L. Cytotoxic and antioxidant effects of the water extract of the traditional chinese herb gusuibu(*Drynaria fortunei*) on rat osteoblasts. J Formos Med Assoc 100: 383-388, 2001.
45. 王本祥. 現代中葯藥理與臨床, 天津科技翻譯出版公司. pp 1483-1487, 2004.
46. 姜義娜. 斑禿藥物治療的新進展. 中國皮膚性病學雜誌 17: 203-204, 2003.
47. 黃霏莉, 余靖, 中醫美容學, 人民衛生出版社. p 324, 1997.
48. Detmar, M. Molecular regulation of angiogenesis in the skin. J Invest Dermatol 106: 207-208, 1996.
49. Goldman, C.K., Tsai, J.C., Soroceanu, L., Gillespie, G.Y. Loss of vascular endothelial growth factor in human alopecia hair follicles. J Invest Dermatol(Suppl) 104: 18-20, 1995.
50. Li, L.F., Guo, J., Gao, Z.F. Overexpression of skin protein kinase C-alpha in anagen hair follicles during induced growth of mouse hair. Clin Exp Dermatol 28: 429-433, 2003.
51. Peters, E.M., Maurer, M., Botchkarev, V.A., Jensen, K., Welker, P., Scott G.A., Paus, R. Kit is expressed by epithelial cells in vivo. J Invest Dermatol 121: 976-984, 2003.