

애엽을 포함하는 해애탕의 에탄올 추출물이 제모된 C57BL/6 마우스의 발모에 미치는 영향

김남희^{1#}, 문선희^{2#}, 김미려^{3,4}, 이영선⁵, 유왕근^{6*}

1 : 동주대학교 미용계열, 2 : 대구한의대학교 대학원 보건학과, 3 : 대구한의대학교 한의과대학, BK 21 plus team (TSKMI),
4 : (재) 대구TP 한방산업지원센터, 5 : 수성대학교, 6 : 대구한의대학교 보건학부

Haeae-tang including *Artemisia argyi* Folium promotes hair growth in hair-removed C57BL/6 Mice

Nam Hee Kim^{1#}, Sun Hee Moon^{2#}, Mi Ryeo Kim,^{3,4} Young Sun Lee⁵, Wang Keun Yoo^{6*}

1 : Sch. of Beauty Culture & Cosmetics, Dongju Coll., Busan, Repub. of Korea

2 : Dept. of Public Health, Daegu Haany Univ. Daegu, Repub. of Korea

3 : BK21 Plus (TSKMI) Team and Dept. of Herbal Pharmacology, Daegu Haany Univ., Daegu, Repub. of Korea

4 : Korean Medicine Industry Support Center, Daegu Technopark, Daegu, Repub. of Korea

5 : Suseong Coll., Daegu, Repub. of Korea, 6 : Dept. of Health Science, Daegu Haany Univ., Daegu, Repub. of Korea

ABSTRACT

Objectives : The experiment was performed to investigate promotive effects of *haeae-tang* (HET) extract, a traditional Korean medicinal recipe, on hair growth, protein and gene expression in hair-removed C57BL/6.

Methods : In experiment, animals were divided into 3 groups including normal (vehicle), HET ethanol extract and 5% minoxidil-treated groups (Minoxidil, positive control). The vehicle or testing samples were daily treated with 0.2ml per on hair-shaved dorsal skin of C57BL/6mice for 15 days. Effects of testing samples on hair growth was monitored through phototrichogram analysis by folliscope on the initial, 5th, 10th, 15th day, respectively. Also, gene and protein expressions of vascular endothelial growth factor (VEGF) and Insulin like growth factor-1 (IGF-1), relevant to hair growth, were examined.

Results : Hair density and hair thickness of Minoxidil treated-group was significantly increased compared to that of vehicle application on the 15thday, respectively. Dorsal hair density of HET treated-group was significantly increased compared to that of vehicle application on the 15thday. In addition, the Minoxidil group significantly increased the expression of cutaneous IGF-1 protein and mRNA compared to that of the vehicle-applied group on the 15th day. And HET-treated group significantly increased the expression of dorsal VEGF protein compared to that of the vehicle-applied group on the 15th day.

Conclusions : These results suggest that this Korean medicinal recipe, HET has promoting activity on hair growth in an Alopecia animal model thus it can be used as a material of agent or products for improvement or prevention of alopecia.

Key words : *Haeae-tang*, alopecia model, Hair growth, IGF-1, VEGF

서론

사람의 모발은 자외선차단, 완충작용 등과 같이 두피를 보

호하는 본래의 기능 이외에 최근 미적 측면의 기능이 중시됨에 따라 외모의 한 부분으로서 외향적 이미지를 결정하는 데 중요한 역할을 한다¹⁾. 따라서 경제적 향상과 함께 높아진 외

*Corresponding author : Wang Keun Yoo, Dept. of Health Science, Daegu Haany Univ., Daegu, Repub. of Korea.
· Tel : +82-53-819-1411 · E-mail : wkyoo@dhu.ac.kr

#First author : Nam Hee Kim, Sch. of Beauty Culture & Cosmetics, Dongju Coll., Busan, Korea

모의 관심은 탈모가 더 이상 과거 주요 질환에 동반되는 부수적 증상으로서가 아니라 하나의 독립된 질병으로 여겨진다.

모발의 형성은 계속적으로 성장하는 것이 아니라 정상모발의 90%를 차지하는 성장기 (anagen, growing phase), 퇴행기 (catagen, transitional phase), 휴지기 (telogen, resting phase), 탈락기 (exogen)로 주기가 구분되며 이러한 주기는 평생 10~20회 정도 순환된다²⁾. 특히 모발은 성장이 정지되고 퇴행기에 많은 모낭의 세포사(apoptosis)에 의하여 melanocyte가 상실되며 탈모가 진행되는데³⁾, 이 때 피부에 존재하는 모발성장 인자인 insulin like growth factor(IGF)-1은 모발의 기능적인 활동을 촉진시켜 모낭의 세포사를 저해시키며, vascular endothelial growth factor (VEGF)는 휴지기에 신생혈관 생성을 촉진하여 새로운 모발의 성장기로 유도하여 두피 및 모낭 세포분열에 관여하는 함으로써 대표적인 발모 관련 인자들이라 볼 수 있다⁴⁾.

탈모예방 및 치료에 대한 한의학적 접근법으로는 기(氣), 혈(血), 경락(經絡) 등이 있으며 선, 후천적인 기의 부족으로 인한 신장 기능의 약화로 기혈의 결핍과 두발의 영양부족으로 머리 뿌리에서 열이 나서 두발의 성장이 불량해 지고 탈모를 일으키게 된다고 본다. 서양의학적인 접근법으로는 식이요법, 두피 자극요법 등과 함께 현재 탈모 치료제 약물인 모발성장 촉진제제로 미국 Food and Drug Administration(FDA)에서 공인받은 것으로 경피도포용인 Minoxidil과 경구투여용인 finasteride가 많이 사용되고 있다⁵⁾. 고혈압 치료제로 개발된 Minoxidil의 경우 부작용으로 작용하는 전신의 발모현상에 의해 발모제로 개발된 케이스로서 작용기전은 현재 명확히 밝혀지지 않았으나, 혈관확장을 통한 영양공급 증가 및 K⁺ channel opening 효과 등이 모발성장을 유도하는 것으로 여겨진다⁶⁾. 그러나 Minoxidil은 모발이 가늘고 길게 자라지 못하는 단점이 있으며, 효과유지를 위한 지속적인 사용이 요구되어지는데¹⁾, 이는 급격한 몸무게 증가, 부종, 심장박동 증가, 협심증 등을 동반 할 수 있고⁷⁾, 홍반, 가려움증, 표피박리, 건성화를 동반한 피부염 및 과잉 도포 시 급격한 혈압강하를 초래하는 등 여러 가지 부작용을 초래하기도 한다. 전립선 비대증 치료제로 개발 되었으나 5 α -reductase의 활성을 억제시킴으로써 탈모의 진행지연 및 발모효과를 지닌 finasteride의 경우 역시 효과유지를 위한 장기복용으로 인한 남성 성기능 장애, 여성 기형아 출산과 같은 부작용⁸⁾은 적극적인 치료에 상당한 제한성을 지닌다.

따라서 최근에는 이러한 단점을 보완하고 지속적 사용에도 안전한 다양한 천연추출물 및 한약소재를 사용하는 대체의학이 주목을 받고 있다⁹⁾. 외국의 경우 호박, 썬기풀 뿌리 추출물, 포도씨, 아보카도유, 시베리아 인삼 등을 원료로 한 천연물 함유 탈모방지 및 양모제품이 많이 출시되고 있으며, 국내의 경우 천연소재(고삼, 세신, 황련, 작약, 영지 추출물, 당약, 생지황, 인삼, 검은콩, 작약추출물 등)를 포함하는 탈모방지 제품을 다수 출시하고 있다¹⁰⁾.

이에 본 연구에서는 상기 천연소재와 차별화된 9가지의 한약소재를 함유하는 해애탕(Haee-tang, HET)을 탈모모델

에 이용되고 있는 C57BL/6 마우스에 도포하여 안전성과 유효성을 갖춘 천연 탈모치료제로서의 과학적 근거를 통한 개발 가능성을 입증하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 실험동물

본 실험은 대구한의대학교 동물실험윤리위원회의 동물실험 가이드라인에 따라 진행(승인번호 DHU2014-018)되었으며, 자발적으로 탈모가 진행되는 특징을 가지면서 모발 성장주기 판정이 용이하여 모발연구에 널리 사용되는 C57BL/6 5주령 마우스를 효창사이언스(대구, 한국)에서 구매하여 사용하였다. 사육실 온도 23 ± 3 °C, 상대습도 50 ± 10%로 유지시키고 12시간 간격으로 light cycle로 개개의 cage 안에서 사육하였다.

2) 시료제조

해애탕 처방구성은 艾葉, 菊花, 藜蘆, 蔓荊子, 防風, 薄荷, 荊芥穗, 藿香 및 甘松香을 각각 6 g씩 혼합하여 총 500 g의 시료를 준비하였다. 약재들은 모두 대원약업사(대구, 한국)로부터 구입하여 10배량의 50% 에탄올로 100 °C로 10시간 동안 추출, 여과, 농축한 후 동결 건조하였고, 사용할 때 까지 4 °C 냉장 보관하였으며, 각 약재들의 수율은 14.2%~18.2%였다.

3) Primer 준비

Internal transcripton marker로는 GAPDH를 사용하였으며, 증폭에 사용한 유전자 primer 염기서열은 다음과 같다(Table 1.)

Table 1. Primer sequences for Real time RT-PCR

Gene	Primer	Sequences (5' → 3')	Gene description size(bp)
VEGF	Forward	CAAGGCCAGCACATAGGAGA	196
	Reverse	GCAACGCGAGTCTGTGTTTT	
IGF-1	Forward	GAAGGTGAAGGTCGGAGTCA	516
	Reverse	AGTCTTTCACGATACCAAAAG	
GAPDH	Forward	TGGAATCTGTGGCATCCATGAAA	350
	Reverse	TAAAACGCAGCTCAGTAACAGTCC	

VEGF, vascular endothelial growth factor; IGF-1, Insulin-like growth factor 1; GAPDH, glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase

2. 실험방법

1) 실험군 선정 및 도포방법

마우스는 1주의 적응기간 후, Pentobarbital (50 mg/kg, 엔도탈, 한림제약)을 복강 주사하여 마취시킨 다음 이발기(Panasonic, ER 1431 p, Japan)를 이용하여 피부에 손상이 가지 않게 주의하여 마우스 등 부위의 털을 1차적으로 제모

한 후, 피부 속에 남아 있는 모낭과 미세 털 제거를 위하여 2차적으로 제모제(니크린, 일동제약)를 발라 피부에 잘 흡수 되도록 5분정도 방치한 후 미지근한 물로 피부에 남아 있는 제모제를 제거하여 24시간 회복기를 거쳐 실험을 진행하였다. 제모한 배부 쪽 피부색이 pink color인 휴지기 체모의 6주령을 난괴법에 의해 Normal군(99.9% 에탄올 60 ml, polyethylene glycol 20 ml, D.W. 20 ml를 혼합한 vehicle액 도포군)과 양성대조군인 Minoxidil군 (vehicle액에 녹인 5% Minoxidil sulfate (Sigma, USA) 도포군) 및 한방처방을 한 treatment 군인 HET군(vehicle액에 녹인 15% 해애탕 도포군) 3군으로 나누어 군당 6마리씩 총 18마리를 15일간 매일 오전 일정한 시간에 실험동물의 등 부위에 각각 200 μ l 씩 경피 도포하였다.

2) 기기적 분석

털의 밀도 및 굵기 변화를 관찰하기 위해 Folliscope(ver. 2.8, Lead M, Korea)를 이용하여 측정하였다. 시료 도포 15 일째에 피부조직을 적출하여 whatman paper에 말리지 않도록 잘 퍼서 붙인 후 기기를 이용하여 개체 당 2개부위의 털의 밀도와 굵기를 측정하여 단위면적 당 평균값으로 분석하였다.

3) 피부조직의 분자생물학적 관찰

(1) RNA 분리 및 RT-PCR

채취한 피부조직에서 RNA를 분리하기 위하여 TRIzol (Invitrogen, Grand Island NY)을 첨가하여 피부조직을 마쇄하여 균질화 시킨 후 3,250 \times g, 4 $^{\circ}$ C에서 10분 동안 원심 분리하였다. 상층액을 취해 chloroform 100 μ l을 첨가하여 3,250 \times g, 4 $^{\circ}$ C에서 20분 동안 원심분리 한 후, 다시 상층액을 취하여 100 μ l의 isopropanol을 첨가한 후 10분간 3000 \times g, 4 $^{\circ}$ C에서 원심 분리하여 RNA pellet를 얻었으며 75% Ethanol로 2회 washing 하고 air-dry 후 diethyl pyrocarbonate (DEPC)-treated water로 0.5~10 μ g/ μ l로 희석하여 RT product (template cDNA)에 2.5mM dNTP, 10X buffer, DEPC-treated water, premixed primer (GenoTech, Korea) 및 Taq DNA polymerase를 넣고 Mastercycler gradient (Eppendorf, Hamburg, Germany)를 이용하여 cDNA를 합성하였으며, 합성된 cDNA는 RNase free water에 희석하여 사용하였으며 유전자발현 분석을 위해 QuantiTect SYBR Green PCR kit (QIAGEN, Germany)를 사용하였다. PCR 반응은 94 $^{\circ}$ C에서 3분간 1cycle 반응 후 94 $^{\circ}$ C 45초, 59 $^{\circ}$ C 45초, 72 $^{\circ}$ C 45초간 38cycle 반응시켰으며, 72 $^{\circ}$ C에서 10분간 extension을 시행한 후 반응을 완료시켰다. 증폭된 산물은 1.2% agarose gel에 전기영동 하여 Gel Doc. (Bio Lad, Italy)를 이용하여 DNA band를 확인하였다.

(2) Western blot analysis

적출한 조직을 lysis buffer(50 mM Tris pH 7.8, 120 mM NaCl, 2 mM EDTA, 1% Triton X-100) 500 μ l을 가하고 Homogenizer (Tissue tearor, Biospec, Korea)을 이용하여 분쇄한 후 원심분리기를 이용하여 용해성 단백질을 추출하였다. Bradford 법으로 단백질을 정량한 후 12% SDS-PAGE gel에서 전기영동하였다. 크기별로 분리된 단백질을 전기적인 방법을 이용하여 PVDF membrane로 이동시키고, 5% skim

milk로 1시간 동안 blocking 한 뒤 primary antibody를 1:1000로 희석하여 4 $^{\circ}$ C에서 overnight 하였다. 1 \times PBST로 3회 세척 후, secondary antibody (Goat anti-Rabbit IgG, Stressgen, USA)를 5% skim milk에 1:1000으로 희석하여 1시간 동안 반응시킨 다음 1 \times PBST로 3회 세척 하였다. 그리고 ECL substrate와 반응시킨 후 Image 분석기(Gel Documentation system, UVP, USA)로 분석하였다.

4) 통계처리

모든 실험결과는 SPSS package program (Statistical Package for the Social Sciences, V.21, SPSS Inc., Chicago)을 사용하여 통계 분석하였다. 모든 분석 값은 Mean \pm S.E로 표시하였고 분석에 대한 유의성 검정은 one-way analysis of variance (ANOVA)를 실시하였으며, 다군간의 차이는 $p < 0.05$ 이상의 수준에서 LSD 다중 검정법으로 사후 검정을 실시하여 각 그룹당 6마리씩 평균값 및 표준편차를 구하여 유의성을 분석하였다.

결 과

1. 해애탕이 모발의 밀도 및 굵기 변화에 미치는 영향

1) 모발의 밀도 변화

15일간 시료를 도포한 피부조직을 고해상도 모발분석 시스템인 폴리스코프(Folliscope)로 촬영한 결과 Normal군과 비교하여 HET군에서의 모발 밀도가 높음을 육안으로 관찰 할 수 있었으며, 이를 수치화하였을 때 HET군이 54.5 \pm 0.5 cm^2 로 Normal군의 39.3 \pm 3.3 cm^2 와 비교하여 유의적으로 높았고, 그 수준은 59.8 \pm 4.4 cm^2 로 관찰된 Minoxidil군과 유사한 것으로 나타났다(Fig. 1, 2).



Fig. 1. Effect of HET on hair density and hair thickness in alopecia model of C57BL/6 mice by Folliscope. The scale was magnified to 100 times. Normal ; vehicle- treated group, Minoxidil ; 5% minoxidil-treated group, HET; 15% *haeae-tang*-treated group.

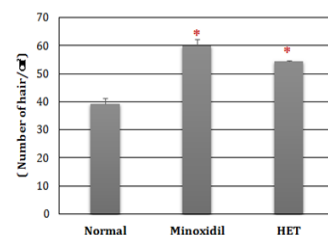


Fig. 2. Effect of HET on quantified hair density in alopecia model of C57BL/6 mice. Data are mean \pm S.E. of 6 mice per group. Normal ; vehicle- treated group, Minoxidil ; 5% minoxidil-treated group, HET; 15% *haeae-tang*-treated group, $p < 0.05$ vs Normal

2) 모발의 굵기 변화

시료가 모발 굵기에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 15일 간 처방전을 도포한 피부조직을 폴리스코프(Folliscope)를 이용하여 모발 굵기를 측정된 결과 Minoxidil군의 경우 0.143 ± 0.009 mm으로 0.111 ± 0.007 mm 인 Normal군과 비교하여 유의적으로 증가하였으나, HET군과의 유의성은 나타나지 않았다(Fig. 1, 3).

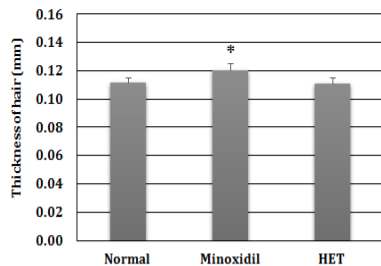


Fig. 3. Effect of HET on quantified hair thickness in alopecia model of C57BL/6 mice. Data are mean ± S.E. of 6 mice per group. Normal ; vehicle- treated group, Minoxidil ; 5% minoxidil-treated group, HET; 15% *haeae-tang*-treated group, * $p < 0.05$ vs Normal

2. 모발성장인자 관련 유전자 발현에 미치는 영향

1) VEGF mRNA

VEGF (Vascular endothelial growth factor)는 혈관내피 성장인자로 혈관 내피를 성장시켜 혈액 순환을 개선, 모발의 성장 및 모근세포의 분화를 강화시키는 인자로 Normal군에 비해 Minoxidil군에서의 발현이 유의적으로 증가하였고, HET군은 증가경향을 보였으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다(Fig. 4).

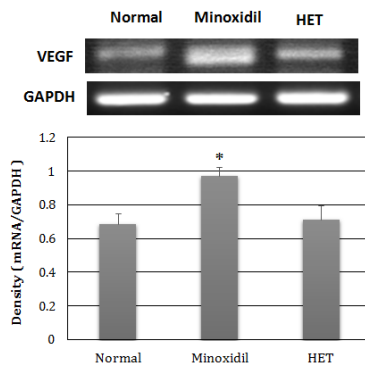


Fig. 4. Effect of HET on VEGF mRNA expression in alopecia model of C57BL/6 mice. Data are mean ± S.E. of 6 mice per group. Normal ; vehicle- treated group, Minoxidil ; 5% minoxidil-treated group, HET; 15% *haeae-tang*-treated group, * $p < 0.05$ vs Normal

2) IGF-1 mRNA

IGF-1 (Insulin-like growth factor-1)은 상피 세포의 증식 촉진 및 모낭조직의 길이를 증가시킴으로서 모발성장을 조절하는 중요한 성장인자로서, Normal군과 비교하여 한방처방군인 HET군에서의 발현이 유의적으로 증가한 반면 Minoxidil군은 유의적으로 낮게 측정 되었다(Fig. 5).

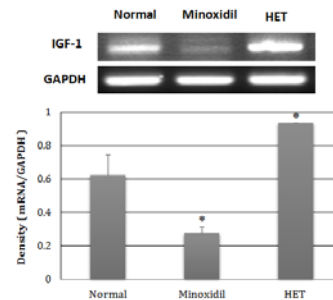


Fig. 5. Effect of HET on IGF-1 mRNA expression in alopecia model of C57BL/6 mice. Data are mean ± S.E. of 6 mice per group. Normal ; vehicle- treated group, Minoxidil ; 5% minoxidil-treated group, HET; 15% *haeae-tang*-treated group, * $p < 0.05$ vs Normal

3. 모발성장인자 관련 단백질 발현에 미치는 영향

1) VEGF 단백질 발현

HET 도포 15일 후의 피부조직 VEGF 단백질 발현량을 측정된 결과 약물대조군인 Minoxidil군이 Normal군에 비해 유의적으로 높게 측정되었으며, 이는 VEGF mRNA 발현과 일치하는 결과이다. HET도포군 역시 Normal군에 비해 유의적으로 높은 발현을 나타내었다(Fig. 6).

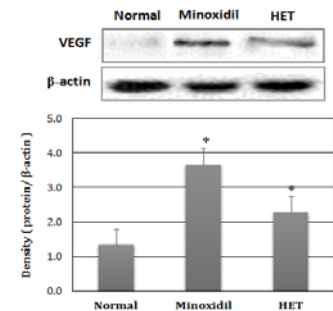


Fig. 6. Effect of HET on VEGF protein expression in alopecia model of C57BL/6 mice. Data are mean ± S.E. of 6 mice per group. Normal ; vehicle- treated group, Minoxidil ; 5% minoxidil-treated group, HET; 15% *haeae-tang*-treated group, * $p < 0.05$ vs Normal

2) IGF-1 단백질 발현

IGF-1 단백질 발현량을 측정된 결과 Normal군과 비교하여 Minoxidil군 및 HET군이 모두 유의적으로 증가 되었으며, 특히 HET군의 경우 IGF-1 mRNA 발현양상과 유사한 패턴을 나타내었다(Fig. 7).

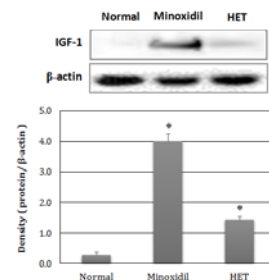


Fig. 7. Effect of HET on IGF-1 protein expression in alopecia model of C57BL/6 mice. Data are mean ± S.E. of 6 mice per group. Normal ; vehicle- treated group, Minoxidil ; 5% minoxidil-treated group, HET; 15% *haeae-tang*-treated group, * $p < 0.05$, Normal vs HET

고찰

한의학에서 탈모의 병인병기에 대하여 腎虛, 肺氣虛, 血熱, 氣血虛, 血虛, 瘀血, 七情 등의 內因과 風邪, 風熱, 濕熱, 五味傷, 蟲, 火 등의 外因으로 구별할 수 있으며, 이 중에서 신체의 허한 틈을 타서 風邪가 침범한 것으로 보는 견해가 많다.¹¹⁾ 지금까지의 양의학적 탈모 치료 방법으로는 minoxidil의 국소도포¹²⁾와 면역치료¹³⁾ 등의 방법이 제시되고 있으나 아직까지 탈모의 원인이 확실하게 밝혀지지 않았기 때문에 그 치료법 역시 확실하게 정립된 것이 없으므로 최근에는 한의학적으로도 탈모에 관한 많은 연구가 수행되고 있다. 전통적인 약물 내복법 외에 다양한 치료방법들이 보고되고 있는데, 약침과 봉침등을 이용하여 유효한 결과를 얻기도 하였으며¹⁴⁾, 한약재를 이용한 실험적 연구에서는 신음양진단, 경옥고가미방¹⁵⁾ 및 사물탕가미방¹⁶⁾등을 이용한 탈모 방지와 발모 촉진에 대한 보고가 있었고, 단일약재로는 당귀, 숙지황, 천궁, 감초, 측백엽, 복령, 백작약, 하수오, 생지황, 상백피, 고삼, 반하 등을 이용한 모발 성장 연구가 진행되어 있다¹¹⁾.

이에 본 연구에서는 '의증금감'에 수재된 해애탕 처방을 응용하여 실험적으로 발모효과가 있는지를 검증하였다. 처방의 구성 약재는 海艾, 菊花, 蘘本, 蔓荊子, 防風, 薄荷, 荊芥穗, 藿香 및 甘松香으로 실험에서는 원방의 海艾 대신 艾葉으로 대체하여 사용하였다. 문헌에 의하면 해애탕을 끓여 머리를 감으면 풍사와 습사를 제거하고 살충작용을 하며, 가려움을 멎게 하며 옴을 치료하는 효과가 있다고 하였으며, 모발을 자라게 하는 것으로 기재되어 있다¹⁷⁾.

실험에 사용한 C57BL/6 마우스는 5주령의 수컷 블랙마우스로 7주령쯤에 자발적인 탈모가 일어나며, 멜라노사이트가 모낭에 한정적으로 존재하여 멜라닌 생성이 모발의 성장 주기와 일치하는 특징이 있어 발모시험에 실험동물로서 용이하다¹⁸⁾. 털의 밀도와 굵기는 쥐를 희생시킨 후 피부에서 조직을 채취하여 모발분석기인 폴리스코프(Folliscope)로 각각 측정하였으며, 이는 디지털 프로브인 특수 외부센서가 대기 상태를 감지하고, 감지된 자료는 프로그램과 연결되어 결과 값들과 함께 저장되는 원리를 이용한다. 온도와 습도 같은 환경적인 요소를 반영함으로써 살아있는 피부조직에 대한 정확한 측정을 가능하게 하여 탈모 환자들의 정확한 탈모상태 및 치료 후 효과를 측정할 수 있는 분석 장비라고 할 수 있다¹⁹⁾. 이 기기로 15일째 희생된 마우스의 모발 밀도가 Normal군에 비해 해애탕 처리동물에서 유의적으로 증가되었고 양성대조군인 Minoxidil 군과 비슷한 수준이었음을 관찰 할 수 있었다. 하지만 모발의 굵기는 Normal군에 비해 양성대조인 Minoxidil군에서 유의적 증가를 나타내었고 해애탕 처리 군에서는 Normal군과 유의적 차이가 없는 것으로 나타나 이는 해애탕을 처리한 마우스의 모발밀도에 있어 Minoxidil과 유사한 효과를 유의적으로 보여주었다.

또한, 이번 연구에서 채취한 피부조직에서 발모관련 마커로 알려진 VEGF와 IGF-1의 mRNA 발현량을 RT-PCR 방법으로 측정하였다. IGF-1은 다양한 생리화학적 시스템에서 매우 중요한 성장요소로 알려져 있으며²⁰⁾, 세포들의 신호전달 과정을 통해 세포 표면의 receptor와 결합하게 되고, 모낭에 있는 keratinocyte의 증식을 촉진하여 털의 발달단계에서 세포들의 성장과 이동에 상당한 역할을 한다고 보고되었다²¹⁾.

쥐를 이용한 여러 가지 실험을 통해 피부에 IGF-1을 과발현시킨 실험군에서 모낭의 발달이 빨라졌고, IGF-1은 survival factor로써 세포사멸을 방지하는 anti-apoptotic 효과가 있다는 것을 확인하였다. 본 연구에서는 IGF-1의 mRNA 수준이 Normal군에 비해 해애탕 처리군에서 유의적으로 증가하였고 Minoxidil을 사용한 군과 비교하여 뒤지지 않는 효과를 보임으로써, 모낭세포의 성장주기(catagen phase) 동안 사멸을 방지함으로써 모낭세포의 퇴화를 억제할 것으로 추측 된다²²⁾.

모낭세포는 휴지기(telogen)를 지나 모낭 각질세포(keratinocyte)의 빠른 증식과 모발 기둥(hair follicle)의 길이와 두께가 커지는 성장기(anagen)를 지난 후, 모낭이 소멸되는 퇴화기(catagen)을 겪게 된다²³⁾. 성장하는 모낭은 표피의 깊은 곳에 존재하는 vascular plexus에서 유래하는 미세한 혈관들로 둘러싸여 있는데, 성장기(anagen)에 존재하는 모낭들은 angiogenic한 성질을 지니고 있어 perifollicular vascularization이 활발히 일어난다는 것이 확인되었다²⁴⁾. Vascular endothelial growth factor (VEGF)는 이러한 모낭의 성장과정에서 혈관 생성에 관여하는 중요한 인자로 대두되었고, 여러 동물실험에서 VEGF가 모낭주위의 미세혈관을 생성시키는 것 뿐만 아니라 탈모 후, 자라나는 모발의 크기를 증가시키고 성장속도를 촉진시킨다는 것이 증명 되었다²⁵⁾. 본 연구에서는 VEGF의 mRNA 수준이 Normal군에 비해 양성대조군인 Minoxidil 군에서 유의적인 증가를 보였으며 해애탕 처리군에서는 증가하는 경향이었으나 Normal군에 비해 통계학적 유의성은 없었다. 하지만 각각의 발모 관련 인자의 단백질 발현량을 알아보기 위해 시행한 Western-blot에서 VEGF와 IGF-1의 단백질 발현이 Normal군에 비해 양성대조군인 Minoxidil군과 해애탕 처리군에서 유의적으로 증가한다는 것을 확인 할 수 있었다. 이 결과들을 통해 해애탕 추출물은 IGF-1과 VEGF 등의 성장인자들을 조절하여 모낭의 빠른 발달 뿐만 아니라 anti-apoptotic한 효과와 더불어 perifollicular vascularization을 촉진시킴으로써 발모 효과를 증대시키는 것으로 사료된다. 본 연구 결과에서 보고되지 않은 해애탕의 유효 농도 범위, 기전 연구 등에 관해서는 추후 심도 있는 연구가 뒷받침되어야 할 것이다.

결론

본 연구는 자발적 탈모 마우스 모델을 이용하여 해애탕의 도포에 따른 모낭의 굵기, 밀도 및 분자생물학적 변화를 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 실험동물(C57BL/6 마우스) 등 부위에 해애탕을 도포하고 3주 동안 관찰한 결과, 해애탕 도포군에서 모낭의 밀도가 Minoxidil을 이용한 양성대조군과 유사하게 나타났다.
2. 피부조직 내에 mRNA 발현도를 관찰한 결과 성장 인자 중 IGF-1이 Normal 군과 비교하여 유의적으로 발현도가 증가하였다.
3. 피부조직 내에 Western blot에 의한 단백질 발현도를

관찰한 결과 성장인자인 IGF-1과 VEGF 모두 Normal 군과 비교하여 유의적으로 발현도가 증가하였다.

결론적으로 해애탕 시료는 실험동물에서 Minoxidil과 유사한 효과를 보이면서 도포 기간 동안 피부에 대한 부작용이 관찰되지 않았으므로, 모발성장 촉진 효과 및 탈모를 예방할 목적으로 사용되는 토닉이나 샴푸 등의 소재로 이용될 수 있을 것으로 판단된다.

References

1. Stough D, Stenn K, Haber R, Parsley WM, Vogel JE, Whiting DA, Washenik K. Psychological effect, pathophysiology, and management of androgenetic alopecia in men. *Mayo Clin Proc.* 2005 ; 80(10) : 1316-22.
2. Arase S, Sadamoto Y, Katoh S, Urano Y, Takeda K. Co-culture of human hair follicles and dermal papilla in a collagen matrix. *J Dermatol.* 1999 ; 17(11) : 667-76.
3. Buhl AE, Waldon DJ, Miller BF, Brunden MN. Differences in activity of minoxidil and cyclosporin A on hair growth in nude and normal mice. *Lab Invest.* 1990 ; 62(1) : 104-7.
4. Krause K, Foitzik K. Biology of the hair follicle: The basics. *Semin Cutan Med Surg.* 2006 ; 25(1) : 2-10.
5. Hagemann T, Schlütter-Böhmer B, Allam JP, Bieber T, Novak N. Positive lymphocyte transformation test in a patient with allergic contact dermatitis of the scalp after short-term use of topical minoxidil solution. *Contact Dermatitis.* 2005 ; 53(1) : 53-5.
6. Buhl AE, Conrad SG, Waldon DJ, Brunden MN. Potassium channel conductance as a control mechanism in hair follicles. *J Invest Dermatol.* 1993 ; 101(1 Suppl) : 148S-52S.
7. Mackay A, Isles C, Henderson I, Fife R, Kennedy AC. Minoxidil in the management of intractable hypertension. *Q J Med.* 1981 ; 50(198) : 175-90.
8. McClellan KJ, Markham A. Finasteride : a review of its use in male pattern hair loss. *Drugs.* 1999 ; 7(1) : 111-26.
9. Kim KR, Lee GR, Lee JM, Ryu JH, Yin CS. Effect of herbal medicines pharmacopuncture on hair growth, a review of animal study reports published in Korea. *Acupunct.* 2014 ; 31(1) : 139-48.
10. Jeong SI, Noh YH. Impact of Ramulus Mori extract and Ayurveda ail on hair loss treatment. *J Kor Soc Cosm.* 2008 ; 14(4) : 1436-42.
11. Park SG, Jo HG, Yang MS, Choi JB, Kim SJ. Bibliographic study on herbal medicine for alopecia. *Kor J Ori Med Physiol Pathol.* 2010 ; 24(3) : 367-72.
12. Civatte J. Topical 2% minoxidil solution in mail pattern alopecia. The initial european experience. *Int J Dermatol.* 1988 ; 27(Suppl 6) : 424-9.
13. Schuttelaar ML, Hamstra JJ, Plinck EP, Peereboom - Wynia JD, Vuzevski VD, Mulder PG, Oranje AP. Alopecia areata in children : treatment with diphencyprone. *Br J Dermatol.* 1996 ; 135(4) : 581-5.
14. Kim KW, Lee KM, Lim SC, Jung TY, Han SW, Seo JC. A case of alopecia areata treated with bee venom and Carthami Flos herbal acupuncture. *J Pharmacopuncture.* 2004 ; 7(2) : 91-6.
15. Do EJ, Hwang MY, Kim SY, Lee JS, Yang DS, Yang CH, Kim MR. The effect of Gyungokgo-gamibang extract on hair growth and protein expression in mice. *Kor J Herbology.* 2011 ; 26(4) : 9-14.
16. Jeong IK, Jo HY, Kim TH, Kim NS, Jeong HS, Lee CH. Morphological studies on hair growth effect of Samultang-gamibang in alopecia areata mice. *Kor J Ori Med Physiol Pathol.* 2009 ; 23(1) : 84-92.
17. Ju YS, Kim GY, Jang SH. Miyong-donguibogam, Seoul : Seongbosa. 2004 : 318-9.
18. Tobin DJ, Hagen E, Bolchkarev VA, Paus R. Do hairbulb melanocytes undergo apoptosis during hair follicle regression (catagen). *J Invest Dermatol.* 1998 ; 111(6) : 941-7.
19. Kang H, Kang TW, Lee SD, Park YM, Kim HO, Kim SY. The changing patterns of hair density and thickness in South Korean women with hair loss : clinical office-based phototrichogram analysis. *Int J Dermatol.* 2009 ; 48 : 14-21.
20. Jones JI, Clemmons DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins, biological actions. *Endocrine Rev.* 1995 ; 16(1) : 3-34.
21. Peus D, Pittelkow MR. Growth factors in hair organ development and the hair growth cycle. *Dermatol Clin.* 1996 ; 14(4) : 559-72.
22. Su HY, Hickford GH, Bickerstaffe R, Palmer BR. Insulin-like growth factor 1 and hair growth. *Dermatol Online J.* 1999 ; 5(2) : 1.
23. Hardy MH. The secret life of the hair follicle. *Trends Genet.* 1992 ; 8(2) : 55-61.
24. Stenn KS, Combates NJ, Eilertsen KJ, Gordon JS, Pardinas JR, Parimoo S, Prouty SM. Hair follicle growth controls. *Dermatol Clin.* 1996 ; 14(4) : 543-58.
25. Yano K, Brown LF, Detmar M. Control of hair growth and follicle size by VEGF-mediated angiogenesis. *J Clin Invest.* 2001 ; 107(4) : 409-17.