

# 인체 모유두세포의 증식에 미치는 갈근 에탄올추출물의 효과

박설아 · 고경숙 · 인명희<sup>1</sup> · 문연자<sup>1,3</sup> · 우원홍<sup>2,4\*</sup>

원광대학교 뷰티디자인과, 1 : 한의학전문대학원 한약자원개발학과, 2 : 한의과대학 해부학교실, 3 : 원광대학교 환경과학연구소, 4 : 원광대학교 한국전통의학연구소

## Effect of *Puerariae Radix* Ethanol Extract on the Proliferation of Human Dermal Papilla Cells

Seol A Park, Kyoung Sook Ko, Myoung Hee In<sup>1</sup>, Yeun Ja Mun<sup>1,3</sup>, Won Hong Woo<sup>2,4\*</sup>

Department of Beauty Design Graduate School, Wonkwang University,

1 : Department of Herbal Resources, Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University,

2 : Department of Anatomy, College of Korean Medicine, Wonkwang University, 3 : Institute of Environmental Science,

4 : Research Center of Traditional Korean Medicine

In this study, we investigated the effect of *Puerariae Radix* ethanol extracts (EPR). The effect of the EPR on proliferation of human hair dermal papilla cells(HHDPCs) by MTT assay and observed Expression of mechanisms that regulate cell proliferation extracellular signal-regulated kinase(ERK) and Akt by western blot. The results showed EPR increased the proliferation of HHDPCs and up-regulation phosphorylation of ERK and Akt. ERK and Akt increased by EPR inhibited phosphorylation by PD98059 (ERK inhibitor) and LY294002 (Akt inhibitor), and cell proliferation was also inhibited. These results suggested EPR increases the proliferation of HHDPCs through phosphorylation of ERK and Akt, and therefore is a beneficial effect for the alopecia treatment.

keywords : *Puerariae Radix*, HHDPCs, cell proliferation, ERK, Akt

### 서 론

모낭은 포유류동물에 존재하는 피부부속기관으로 태아기에 중배엽과 외배엽 사이에서 파생되고 내모근초(inner root sheath), 외모근초(outer root sheath), 모근(hair root), 모유두(hair dermal papilla), 모기질(hair matrix), 멜라닌형성세포(melanocyte) 등이 존재한다.<sup>1,2)</sup> 이 중 모유두세포는 모구(hair bulb) 내 특화된 섬유아세포의 일원으로 세포의 증식을 통해 모발의 성장주기 및 남성형 탈모(androgenetic alopecia)에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다<sup>3-5)</sup>. 모유두(dermal papilla)는 모낭의 가장 하단부에 위치하며, 모기질세포(hair matrix cell)에 감싸져있고 EGF (epidermal growth factor), TGF (transforming growth factor)- $\alpha$ ,  $\beta$ , KGF (keratinocyte growth factor), IL (interleukin)-1 등의 성장, 저해인자를 통해 세포의 증식, 분열, 사멸 등을 조절하여 모낭의 발생 및 성장주기, 모발의 성장을 조절한다<sup>6)</sup>.

모발은 각각의 독립된 성장주기를 갖은 모낭의 anagen phase, catagen phase, telogen phase 세단계의 반복을 통해 성

장하고 탈락한다.<sup>7,8)</sup> Anagen phase는 새로운 모낭을 유도하는 propagating anagen phase와 세포 및 모발의 성장과 분화가 활발히 일어나는 autonomous anagen phase로 나누어 볼 수 있다.<sup>8,9)</sup> 정상적인 모발의 성장주기는 약 20회 반복되지만 호르몬, 스트레스, 질병, 환경오염, 흡연 등의 내·외적인 요인에 의해 변형 및 단축된다. 주기의 변화는 anagen phase 단축 및 조기 catagen phase 진입, telogen phase의 연장 등의 형태로 나타나며, 모발의 탈락을 유도하여 탈모를 초래한다.<sup>12-15)</sup> 탈모로 고통 받는 환자의 수는 매년 증가하는 추세로 환자의 수는 약 천만 명에 이르는 것으로 추산되며, 그에 따른 탈모 치료제 및 치료법 개발 등에 관심이 높아지고 있다. 현재까지 탈모의 기전 및 원인은 정확하게 밝혀지지 않았으며, 미국식품의약국(Food and Drug Administration, FDA)에 승인받은 탈모치료제는 minoxidil과 finasteride 두 가지가 있다. Finasteride의 작용기전은 남성호르몬 대사에 영향을 미치는 5 $\alpha$ -reductase type II의 억제를 통해 남성형 탈모를 예방하는 것으로 밝혀졌으며, minoxidil의 작용 기전은 정확하게 밝혀지지 않았다. 관련연구에 따른 Minoxidil의 모발성장 효과는 혈관확

\* Corresponding author

Won Hong Woo, Department of Anatomy, College of Korean Medicine, Wonkwang University, 460, Iksan-daero, Iksan-si, Jeollabuk-do, Korea

E-mail : whwoo@wku.ac.kr Tel : +82-63-850-6845

Received : 2017/04/07 Revised : 2016/06/21 Accepted : 2017/06/22

© The Society of Pathology in Korean Medicine, The Physiological Society of Korean Medicine

pISSN 1738-7698 eISSN 2288-2529 http://dx.doi.org/10.15188/kjopp.2017.06.31.3.167

Available online at https://kmpath.jams.or.kr

장을 통한 영양공급 증가, K<sup>+</sup> channel opening을 통한 모발성장 유도, 모유두세포의 extracellular signal-regulated kinase (ERK), Akt 경로의 활성화를 통한 세포증식 및 apoptosis억제 효과 등으로 보고되었다<sup>16-18)</sup>. 그러나 finasteride의 남성의 성기능 저하와, 여성의 불임 및 기형아 출산에 대한 부작용과 minoxidil의 도포부위의 알레르기성 피부염 및 홍반, 가려움증, 도포 중단 시 탈모재발 등의 부작용으로 인해 안전하며, 효과의 지속력이 높은 천연물을 이용한 치료제 개발 연구가 진행되고 있다.<sup>19,20)</sup>

갈근(*Puerariae Radix*)은 다년생 콩(*Leguminosae*)과 식물로 우리나라 산에서 흔히 자라며, 예로부터 차, 죽, 미숫가루 등의 식용과 감기, 두통, 설사, 당뇨, 이질 등에 약용으로 사용되었다.<sup>20,21)</sup> 현재까지 모공축소 및 피지분비 억제용 화장료 조성물의 특허와 다양한 약리효과<sup>22-29)</sup>가 보고되었지만 모발개선 및 탈모치료에 관련된 연구는 보고되지 않았다.

이에 본 연구는 피지분비 억제 효능 및 항염, 항균, 피부개선 효과가 있는 갈근 추출물이 탈모 및 두피 환경 개선에 영향을 미칠 것으로 판단하고 발모 및 탈모에 밀접한 관련이 있는 인체 모유두세포(human hair dermal papilla cells, HHDPCs)를 이용하여 갈근 에탄올추출물(Ethanol Extract of *Puerariae Radix*, EPR)이 세포증식 및 관련 신호전달 인자에 미치는 영향을 평가하여 탈모 치료제 개발의 기초자료를 제공하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료추출

(주) 옴니허브에서 구입한 갈근 200 g에 100% EtOH 2 ℓ를 넣어 3일간 실온에서 추출하였다. 추출물을 거즈로 여과한 후 회전감압농축기(EYELA, Japan)를 이용하여 3.89 g (수율 1.945%)의 시료를 얻었다. 시료는 냉동 보관하였으며, DMSO에 녹여 실험에 사용하였다.

### 2. 세포주 배양

Scien Cell (CA, USA)사에서 구입한 인체 모유두세포(Human Hair Dermal Papilla Cells, HHDPCs)를 10% Fetal bovine serum (FBS; Welgene, Gyeongsan, Korea), 100 units/mL penicillin 100 µg/mL가 첨가된 Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM; Welgene, Gyeongsan, Korea)을 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다.

### 3. 모유두세포의 증식에 미치는 영향

세포 증식을 측정은 Mosmann (1983)의 방법에 의하여 실시하였다. 모유두세포를 24 well plate에 2x10<sup>3</sup> 개씩 분주하고 갈근 에탄올추출물(EPR) 5, 10, 25 µg/mL와 양성대조군 minoxidil 10 µM (Sigma, MO, USA)을 처리한 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub>하에서 48시간, 72시간 배양하였다. ERK, Akt inhibitor (PD98059, LY294002; cell signaling, MA, USA)처리에 의한 세포 증식을 측정은 모유두세포를 24 well plate에 2x10<sup>3</sup> 개씩 분주 후 24시간 뒤 inhibitor를 1시간 전처리하고, 갈근 에탄올추출물(EPR)을 10, 25 µg/mL로

처리하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub>하에서 72시간 배양하였다. 배양 후 0.5 mg/mL thiazolyl blue tetrazolium bromide (MTT; Sigma, MO, USA) 용액을 넣어 3시간 37°C에서 반응시킨 뒤 상층액을 제거하고 형성된 formazan을 DMSO 1 mL로 녹여 ELISA reader로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 4. Western blot 분석

모유두세포를 10 cm 배양용기에 5x10<sup>5</sup> 개씩 세포를 분주하여 24시간 배양한 후 갈근 에탄올추출물(10, 25 µg/mL)과 양성 대조군 minoxidil (10 µM)를 각각 처리하고 30분간 배양하였다. 배양된 세포를 PBS 세척 후 cell scraper를 이용해 수거하고 1x lysis buffer (1x RIPA buffer 1 mL, 1 mM PMSF, 1 µg/mL aprotinin, 1 µg/mL leupeptin, 2 mM DTT)로 30분간 용해시킨 뒤 15,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 얻은 상층액을 이용하였다. 단백질은 Bradford 시약을 이용하여 정량하였고, 2x sample buffer (1 mL glycerol, 0.5 mL β-mercaptoethanol, 3 mL 10% SDS, 1.25 mL 1 M Tris-HCl, 1~2 µg bromophenol blue)와 동량으로 혼합한 후 10~12% SDS polyacrylamide gel에서 전기영동 하였다. PVDF membrane로 전이시키고 5% non-fat skim milk (Becton, Le Pont de Claix, France)와 3% BSA (sigma)로 blocking 시킨 후 anti-p-Akt anti-t-Akt, anti-p-ERK, anti-t-ERK의 Antibody, anti-rabbit를 사용하였으며, 1차 antibody는 1:1000, 2차 antibody는 1:5000의 비율로 사용하였다. ECL (Buckinghamshire, England) 용액으로 발색 후 Chemi Doc을 이용하여 각 band의 사진을 촬영하였다.

### 5. 통계처리

모든 실험은 3회 반복하여 평균 ± SD로 나타내었으며, Sigma Plot (San Jose, CA, USA)의 student's t-test를 이용하여 p-value값을 계산하여 통계적 유의성 검증을 실시하였다. p<0.05 인 경우 \*로 표기하였고 p<0.01인 경우 \*\*로 표기하여 유의성을 나타내었다.

## 결 과

### 1. 모유두세포 증식 촉진효과

갈근 추출물 (EPR)이 모유두세포의 증식에 미치는 영향을 확인하기 위하여 시료를 농도별(5, 10, 25 µg/mL)로 처리하고 48시간과 72시간 후 MTT assay를 이용하여 측정하였다. 실험 결과, 각각의 농도에서 48시간 후 대조군(100%)에 비해 96(±1.1)%, 105(±4.9)%, 110(±4.0)%였으며, 72시간 후 104(±2.3)%, 113(±3.3)%, 112(±6.2)%로 나타났다(Fig. 1). 양성대조군인 minoxidil(10 µM)은 48시간과 72시간 후 각각 103(±1.1)%, 108(±3.7)%였다. 따라서 48시간 후 10, 25 µg/mL 농도 구간에서 모유두세포의 증식이 촉진되고 72시간 후 모든 농도에서 세포증식의 효과가 더 높아졌다. 특히 세포증식 촉진효과는 minoxidil보다 높게 나타났다.

### 2. ERK 인산화에 미치는 영향

갈근 추출물이 모유두세포의 증식을 촉진하는 신호전달기전을 조사하기 위하여 시료를 처리한 뒤 western blot분석으로 ERK 인산화를 조사하였다. Fig. 2A와 같이 갈근 추출물 10 µg/ml과 25 µg/ml 농도로 처리 시 ERK 인산화가 증가되었다. 갈근의 ERK 인산화 촉진 효과를 ERK 억제제인 PD98059 (20 µM)를 처리하여 확인한 결과, 갈근 추출물에 의해 증가된 ERK 인산화가 PD98059에 의해 감소하였다(Fig. 2B). 따라서 갈근 추출물은 모유두세포에서 ERK의 인산화를 촉진하였다.

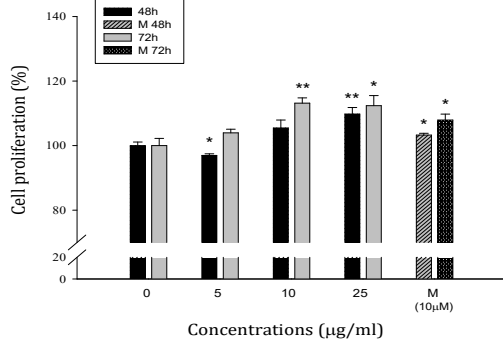


Fig. 1. The Effect of EPR on the cell proliferation in HHDP cells. Cells were treated with EPR (5, 10, 25 µg/ml) and minoxidil (10 iM) for 48 h or 72 h. The proportion of survival cells was measured by MTT assay. Experiments were repeated in triplicate and the results were expressed as the mean ± SD. \*p < 0.05, \*\*p < 0.01.

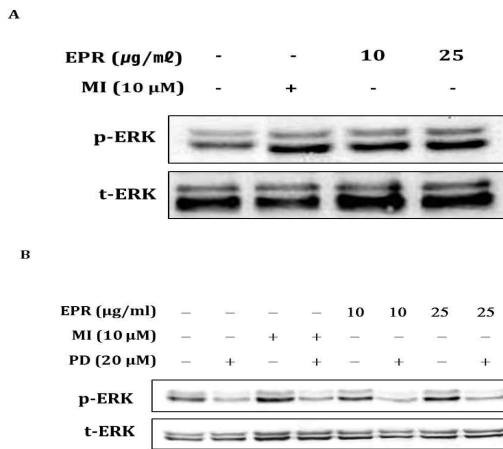


Fig. 2. EPR induced phosphorylation of ERK in HHDP cells. (A) Cells were treated with EPR (10 and 25 µg/ml) and Minoxidil (10 iM) for 30 min. The levels of phospho-ERK and ERK were analyzed by western blot. (B) Cells were pre-treated with ERK inhibitor (PD98059, 20 iM) for 1 h, followed by EPR and minoxidil treatment for 30 min. Experiments were repeated in triplicate and the results were expressed as the mean ± SD. \*p < 0.05, \*\*p < 0.01.

3. ERK 인산화를 통한 모유두세포 증식 촉진효과

갈근 추출물이 ERK의 인산화를 촉진하였으므로 갈근이 ERK를 경유하여 모유두세포의 증식을 촉진하는지 확인하였다. ERK 억제제 PD98059를 1시간 전처리하고 시료에 72시간 배양한 후 세포 생존율을 측정한 결과, 갈근 추출물 (10, 25 µg/ml)은 모유두세포의 증식을 촉진하였으나, PD98059 처리 시 약 89%, 86%로 감소

하였다(Fig. 3). 따라서 갈근 추출물은 ERK 인산화를 경유하여 모유두세포의 증식을 촉진함을 알 수 있었다.

4. 모유두세포의 Akt 인산화에 미치는 영향

갈근 추출물이 모유두세포의 증식을 촉진하는 신호전달기전을 조사하기 위하여 시료를 처리한 뒤 western blot분석으로 Akt 인산화를 조사하였다. Fig. 4A와 같이 갈근 추출물 10 µg/ml과 25 µg/ml 농도로 처리 시 Akt 인산화가 증가되었다. 갈근의 Akt 인산화 촉진 효과를 Akt 억제제인 LY294002 (20 µM)를 처리하여 확인한 결과, 갈근 추출물에 의해 증가된 Akt 인산화가 LY294002에 의해 감소하였다(Fig. 4B). 따라서 갈근 추출물은 모유두세포에서 Akt의 인산화를 촉진하였다.

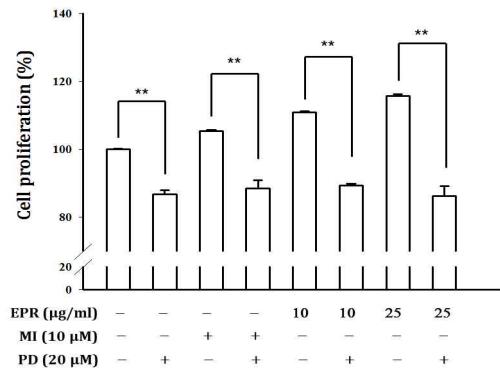


Fig. 3. EPR increased cell proliferation via ERK activation in HHDP cells. Cells were pre-treated with ERK inhibitor (PD98059, 20 iM) for 1 h, followed by EPR (10, 25 µg/ml) and minoxidil (10 iM) treatment for 72h. The proportion of survival cells was measured by MTT assay. Experiments were repeated in triplicate and the results were expressed as the mean ± SD. \*p < 0.05, \*\*p < 0.01.

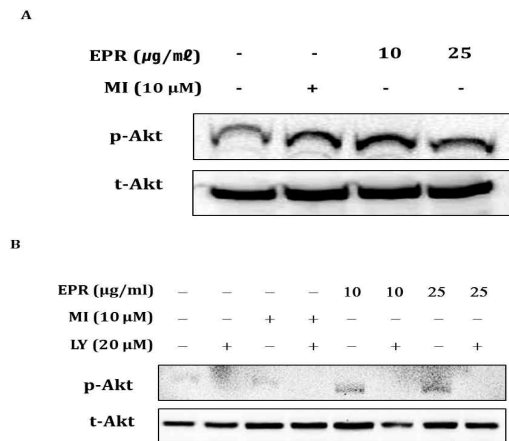


Fig. 4. EPR induced phosphorylation of Akt in HHDP cells. (A) Cells were treated with EPR (10 and 25 µg/ml) and Minoxidil (10 iM) for 30 min. The levels of phospho-Akt and Akt were analyzed by western blot. (B) Cells were pre-treated with Akt inhibitor (LY294002, 20 iM) for 1 h, followed by EPR and minoxidil treatment for 30 min. Experiments were repeated in triplicate and the results were expressed as the mean ± SD. \*p < 0.05, \*\*p < 0.01.

5. Akt 인산화를 통한 모유두세포 증식 촉진효과

갈근 추출물이 Akt의 인산화를 촉진하였으므로 갈근이 Akt를 경유하여 모유두세포의 증식을 촉진하는지 확인하였다. Akt 억제제인 LY294002 (20  $\mu$ M)를 1시간 전처리하고 시료에 72시간 배양한 후 세포 생존율을 측정된 결과, 갈근 추출물 (10, 25  $\mu$ g/ml)은 모유두세포의 증식을 촉진하였으나, LY294002 처리 시 78%, 76%로 감소하였다(Fig. 5). 따라서 갈근 추출물은 Akt 인산화를 경유하여 모유두세포의 증식을 촉진함을 알 수 있었다.

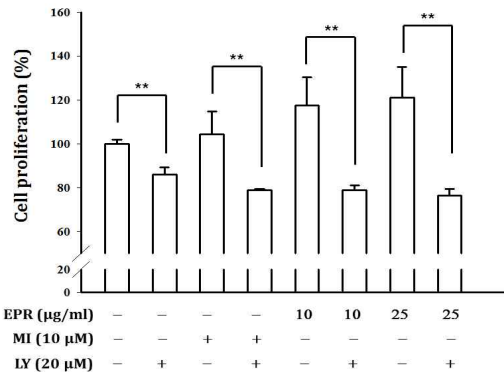


Fig. 5. Inhibitory effects of LY294002 on EPR induced cell proliferation in HHDPcs. Cells were pre-treated with Akt inhibitor (LY294002, 20  $\mu$ M) for 1 h, followed by EPR (10, 25  $\mu$ g/ml) and minoxidil (10  $\mu$ M) treatment for 72h. The proportion of survival cells was measured by MTT assay. Experiments were repeated in triplicate and the results were expressed as the mean  $\pm$  SD. \*p < 0.05, \*\*p < 0.01.

## 고찰

탈모는 여러 가지 원인에 의해 모발의 탈락이 정상적인 모발 성장주기보다 빠르게 일어나는 것을 말하며, 탈모의 원인으로는 유전, 스트레스, 식생활, 모발 및 두피제품 등이 있다. 모발은 외부 자극, 자외선, 온도에 따른 체온변화 등의 보호와 체내 중금속을 배출하는 역할을 하며, 현대사회에서는 개인의 개성을 표현하는 장식적인 수단으로 자신감에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다<sup>31)</sup>. 최근 탈모증으로 고통 받는 환자의 수는 천만 명에 이르는 것으로 추산되며, 증가된 탈모 환자의 수만큼 그에 따른 치료방법 개발에 다양한 연구가 진행되고 있다. 그러나 발병의 원인, 치료방법, 치료제에 대한 확실한 방법은 제시되지 못하고 있다.

모낭은 모발을 성장시키는 역할을 하며 epithelial cell과 mesenchymal cell 및 여러 소기관으로 구성되어 있다. Mesenchyma cell에 속하는 모유두세포는 모낭에 영양을 공급하고 성장, 저해인자 분비 및 상피세포와의 상호작용을 통해 모발의 성장을 조절한다. Mesenchyma cell은 stem cell로 손상된 조직의 재생에 대한 연구 등에 사용되며, 모유두세포의 증식 및 사멸은 모낭유지, 모주기, 모발성장에 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 따라서 최근 모유두세포를 이용한 모낭 및 모발관련 연구가 진행되고 있으며, ginsenoside F2, Avicennia marina, 당귀와 감초 복합 한약추출물 등의 천연물을 이용한 연구가 보고되었다.<sup>32-36)</sup>

갈근은 칩의 주피를 제거한 뿌리로 한방에서 고혈압, 관상동맥 경화증, 협심증, 노인성, 당뇨, 숙취제거 등에 이용된다. 약리작용

으로 항산화성 및 미백효과, 알레르기 염증 작용, 골 손실 방지, 항염증, 아질산염소거 및 간독성 보호, 지질저하, 대장암세포 증식 저해 등이 보고되었다.<sup>24-30)</sup> 갈근의 주요성분은 daidzein, daidzin, puerarin, apigenin, isoflavonoid, genistein, kakkonein 등이 있으며 특히 isoflavonoid는 열수추출보다 에탄올추출에서 높은 함량으로 추출되는 것으로 보고되어있다.<sup>40)</sup> Isoflavonoid는 검은 색소 성분의 플라보노이드로 검은콩, 콩나물, 갈근 등에 많이 함유되어 있고, 피토에스트로젠(phytoestrogen)의 일종으로 여성호르몬 에스트로젠(estrogen)의 특성과 동일한 식물 내에 존재하는 호르몬 유사물질로서 5 $\alpha$ -reductase의 작용을 억제하여 DHT의 생성 저해를 통해 남성형 탈모 및 원형탈모를 개선한다.<sup>9-10)</sup> 현재까지 갈근의 약리작용은 항염, 항산화, 항암 등에 집중되어있으며 두피 및 탈모에 관련된 연구는 부족한 실정이다. 따라서 본 연구는 갈근 추출물이 인체 모유두세포의 증식에 미치는 영향 및 관련 메커니즘을 알아보고자 실험을 진행하였다.

모유두세포의 증식율을 측정하기 위해 갈근 추출물을 농도별로 처리한 결과, 10~25  $\mu$ g/ml의 농도에서 대조군보다 높은 증식율이 나타났으며, 양성대조군으로 사용한 minoxidil (10  $\mu$ M)의 세포 증식율보다 높은 것으로 확인되었다. Minoxidil의 세포증식효과는 수염, 체모, 두피 등의 분리 기관에 따라 다를 수 있으며, 배양 조건에 따라 차이가 있는 것으로 생각된다. MAPK 중 하나인 extracellular signal-related kinase (ERK)의 활성화는 세포증식에 깊이 관여함이 알려져 있으며 탈모 치료제인 minoxidil은 ERK의 활성화를 통해 모유두세포의 증식을 유도한다고 보고되었다.<sup>38)</sup> 또한 fibroblast growth factor (FGF)와 insulin-like growth factor (IGF)-1 등의 여러 인자로 인한 Wnt/ $\beta$ -catenin pathway가 모낭형성에 중요한 것으로 나타났다.<sup>39,40)</sup> 이와 관련된 연구로 Ciprofloxacin이 Akt 인산화 촉진에 관련된 GSK3 $\beta$  (Ser9)의 비활성화로 Wnt/ $\beta$ -catenin 안정화를 증가시켜 모유두세포의 줄기세포능을 유지시킨다고 보고되었다.<sup>40)</sup> 따라서 모유두세포의 증식을 증가시킨 갈근 추출물이 ERK, Akt 인산화 발현에 미치는 영향을 western blot을 통해 관찰한 결과, 갈근 추출물 (10, 25  $\mu$ g/ml)처리 시 ERK와 Akt의 인산화가 촉진되었다. 또한 ERK억제제인 PD98059와 Akt억제제인 LY294002를 전 처리하였을 때 ERK와 Akt의 인산화가 억제되어 ERK, Akt 경로를 통한 세포증식에 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과 PD98059와 LY294002의 전처리로 인해 세포의 증식이 억제된 것을 확인하였다.

이상의 결과 갈근 추출물이 ERK와 Akt의 인산화를 유도하여 모유두세포의 증식을 촉진함으로써 모발의 성장을 유도할 수 있다는 가능성을 제시한다. 따라서 갈근 추출물의 탈모억제 및 발모 효과를 입증할 후속연구가 필요하며, 탈모 치료제 개발 후보물질로서 가치가 있는 것으로 생각된다.

## 결론

갈근 추출물이 인체 모유두세포의 증식에 미치는 영향을 조사하기 위해 농도별 세포 생존율과 관련 MAPK의 발현을 측정하였다. 그 결과, 모유두세포의 증식이 증가하였고 ERK, Akt의 인산화

가 촉진되었으며, 증가된 세포 증식과 인산화의 촉진을 ERK와 Akt 억제제 전처리를 통해 확인한 결과, 모두 억제되었다. 이러한 결과를 통해 갈근 에탄올추출물의 세포증식은 ERK, Akt 인산화 경유를 통한 효과임을 확인하였다. 이에 본 연구는 갈근 에탄올추출물은 모유두세포의 증식을 유도하여 모발의 성장에 영향 미칠 것으로 판단되며, 탈모 치료제 개발에 기초자료가 될 것으로 사료된다.

## 감사의 글

이 논문은 2016학년도 원광대학교의 교비지원에 의하여 수행되었습니다.

## References

1. Kwack MH, Ahn JS, Kim MK, Kim JC, Sung YK. Preventable effect of L-threonate, an ascorbate metabolite, on androgen-driven balding via repression of dihydrotestosterone-induced dickkopf-1 expression in human hair dermal papilla cells. *BMB Reports*. 2010;43(10):688-92.
2. Hardy MH. The secret life of the hair follicle. *Trends Genet*. 1992;8(2):55-61.
3. Inui S, Fukuzato Y, nakajima T, Yoshikawa K, Itami S. Identification of Androgen-inducible TGF-beta1 Derived from Dermal Papilla Cells as a Key Mediator in Androgenetic Alopecia. *J Investing Dermatol Symp Proc*. 2003;8(1):69-71.
4. Olive RF. The Induction of Hair Follicle Formation in the Adult Hooded Rat by Vibrissa Dermal Papilla. *J Embryol Exp Morphol*. 1970;23:219.
5. Kim OY. Effects of Ultraviolet B Irradiation and Oxidative Stress on MicroRNA Expression Profiles in Normal Human Dermal Papilla Cells. The Graduate School of Konkuk Univ. 2014. p 10.
6. Lee MJ. Study on protective effects of epigallocatechin gallate on dihydrotestosterone-induced damage by using the microRNA expression profiles in human dermal papilla cells. The Graduate School of Konkuk Univ. 2015. p 1-2.
7. Lim NY, Kim DS, Woo WH, Moon YJ, Ko KS. Effect of fructus ligustri lucidi of H<sub>2</sub>O extract on cell proliferation and cell signal pathway in human hair dermal papilla cells. *J Kor Soc Cosm* 2001;17(4):774-9.
8. Botchkarev VA, Kishimoto J. Molecular control of epithelial-mesenchymal interactions during hair follicle cycling. *J Invest Dermatol*. 2003;8(1):46-55.
9. Cho YL, Lee EJ, Cho KH. The Effect of Glycine Semen Nigra Extract on Dermal Papilla (DP) Cell Proliferation and Differentiation During Anagen Phase of Hair Cycle. *J Natural Science*. 2010;22:73-96.
10. McElwee KJ, Niiyama S, Freyschmidt-Paul P, Wenzel E, Kissling S, Sundberg JP, Hoffmann R. Dietary soy oil content and soy-derived phytoestrogen genistein increase resistance to alopecia areata onset in C3H/HeJ mice. *Exp Dermatol*. 2003;12(1):30-6.
11. Plikus M.V, Mayer JA, Cruz D, Baker RE, Maini PK, Moxson R, Chuong CM. Cyclic dermal BMP Signaling Regulates Stem Cell Activation During Hair Regeneration. *Nature*. 2008;451(7176):340-4.
12. Jeon HY, Kim SH, Kim CW, Shin HJ, Seo DB, Lee SJ. Hair Growth Promoting Effect of Black Soybean Extract In Vitro and In Vivo. *Korean J Food Sci*. 2011;43(6):747-53.
13. Arase S, Sandamoto Y, Katoh S, Urano Y, Takeda K. Co-culture of human hair follicles and dermal papillae in a collagen matrix. *J Dermatol*. 1999;17(11):667-76.
14. Zhao L, Liu LQ, Wang YJ, Yang W, Geng WX, Wei J, Li LW, Chen FL. Treatment of alopecia by transplantation of hair follicle stem cells and dermal papilla cells encapsulated in alginate gels. *Med Hypothesis* 2007;10(5):1-3.
15. Stenn KS, Combates NJ, Gordon JS, Pardinias JR, Parimoo S, Prouty SM. Hair follicle growth controls. *Dermatol Clin*. 1996;14(4):543-58.
16. Buhl AE, Waldon DJ, Conrad SJ, Mulholland MJ, Kubicek MF, Johnson GA, Brunden MN, Stefanski KJ, Stehle RG, Gadwood RC, Kamdar BV, Thomasco LM, Schostarez HJ, Schwartz TM, Diani AR. Potassium channel conductance: a mechanism affecting hair growth both in vitro and in vivo. *J Invest Dermatol*. 1992;98(3):315-9.
17. Han JH, Kwon OS, Chung JH, Cho KH, Eun HC, Kim KH. Effect of minoxidil on proliferation and apoptosis in dermal papilla cells of human hair follicle. *J Dermatol Sci*. 2004;34(2):91-8.
18. Meisneri KD, Cipkus LA, Taylor CJ. Mechanism of action of minoxidil sulfate-induced vasodilation: a role for increased K<sup>+</sup> permeability. *J Pharmacol*. 1988;245(3):751-60.
19. Melcangi RC, Caruso D, Abbiati F, Giatti S, Calabrese D, Piazza F, Cavaletti G. Neuroactive Steroid Levels are Modified in Cerebrospinal Fluid and Plasma of Post-Finasteride Patients Showing Persistent Sexual Side Effects and Anxious/Depressive Symptomatology. *J Sexual Medicine*. 2013;10(10):2598-603.
20. Hagemann T, Schlutter-Bohmer 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. *Cont Derm*. 2005;53(1):85-97.

21. Lee SJ. Bonchokungmok. Jinunsa Seoul, 1980. 18:537 p.
22. Lee OH. Effect of Supplementation of Puerariae Radix Ethanol Extract on the Antioxidative Defense System in Rats. *J Nutr Health*. 2004;37(10):872-80.
23. Park JM, Lee DW, Choe SG, Ha JW. Cosmetic composition for reducing skin pore size and secreting sebum containing the extract of *Oenothera odorata* Jacq., *Pueraria radix*, Pine tree leaves and *Ulmus pumila* L. The Graduate School oh Seokyeong Univ. 2013.
24. Kim IC. Antioxidative Property and Whitening Effect of the Pueraria Radix, Poria Cocos and Coptidis Rhizoma. *J of The Korean Oil Chemists*. 2008;25(2):219-25.
25. Kim HB, Kang KH, Hwang WD, Lyu SA, Lee SY. The Effects of Puerariae Radix on Allergic Inflammation. *J Korean Oriental Pediatrics*. 2009;23(3):217-31.
26. Park JA, Lee SO, Moon EJ, Kim M, Lim SC, Cho MH, Kim SY. Protective Effect of Puerariae Radix on Ovariectomy-induced Bone Loss in Rats. *Natural Product Sciences*. 2011;17(3):189-97.
27. Kim SN, Kim HS, Nam GS, Hwang SW, Hwang SY. Inhibition of Inflammatory-cytokines Production and Prostaglandin E2 Activity by Puerariae Radix Extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2006;35(1):28-34.
28. Yun IR, Choi YJ, Heo JH, Choi CY, Seoung TJ, Kim YG, Kim JS. Nitrite scavenging activity and protective effect of the Puerariae Radix and green tea extract on lead acetate and cadmium-induced liver damage in mice. *Korean J Vet Serv*. 2010;33(3):275-85.
29. Lee E, Kang JH. Effects of Gal geun (*Puerariae Radix*) on lowering lipid and antioxidant Korean J. *Plant Res*. 2008;21(6):457-61.
30. Lee SY, Kim HS, Kim JO, Hwang SW, Hwang SY. Inhibitory Effect of Mixture of Ethanol Extracts in *Agastachis Herba* and *Pueraria Radix* on the Proliferation and PGE<sub>2</sub> Production of HT-29 Human Colon Cancer Cell Line. *Kor. J. Pharmacogn*. 2006;37(4):283-9.
31. Park JS. Effect of *Origanum vulgare* Extracts on Hair regeneration. *Kor J Pharmacogn*. 2013;43(3):275-80.
32. Kim JR, Kim MJ, Kim YJ, Yoon YM, An SK. Analysis of the Gens Expression Profiling in Human Dermal Papilla Cells Stimulated by Hydrogen peroxide. *J Kor Soc Cosm*. 2012;18(1):110-9.
33. Lee YK, Choi JH. Effects of Black Soybean and Germinated Black Soybean Extracts on proliferation of primary human follicle dermal papilla cells. *Korea Society for Wellness*. 2015;10(1):293-301.
34. Shin HS, Park SY, Hwang ES, Lee DG, Mavlonov GT, Yi TH. Ginsenoside F2 Reduces Hair Loss by Controlling Apoptosis through the Sterol Regulatory Element-Binding Protein Cleavage Activating Protein and Transforming Growth Factor- $\beta$  Pathways in a Dihydrotestosterone-Induced Mouse Model. *Biol. Pharm. Bull*. 2014;37(5):755-63.
35. Jain R, Monthakantirat O, Tengamuay P, De-Eknamkul W. Avicquinone C isolated from *Avicennia marina* exhibits 5 $\alpha$ -reductase-type 1 inhibitory activity using an androgenic alopecia relevant cell-based assay system. *Molecules*. 2014;19(5):6809-21.
36. Lee JS, Kim YC. Regular Articles : The Promoting Effect of *Angelica gigas* Nakai and *Glycyrrhiza uralensis* Fischet Oriental Medicine Complex Extracts on Hair Growth. *J Cosme Sci*. 2010;6(1):49-56.
37. Kim SN, Kim HS, Nam GS, Hwang SW, Hwang SY. Inhibition of Inflammatory-cytokines Production and Prostaglandin E2 Activity by Puerariae Radix Extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2006;35(1):28-34.
38. Hna JH, Kwon OS, Chung JH, Cho KH, Eun HC, Kim KH. Effect of minoxidil on proliferation and apoptosis in dermal papilla cells of human hair follicle. *J Dermatol. Sci*. 2004;34(2):91-8.
39. Enshell-Seiffers D, Lindon C, Kashiwagi M, Morgan BA. Beta-catenin activity in the dermal papilla regulates morphogenesis and regeneration of hair. *Developmental Cell*, 2010;18(4):633-42.
40. Kiratipai boon C, Tengamnuay P, Chanvorachote P. Ciprofloxacin Improves the Stemness of Human Dermal Papilla Cells. *Stem Cells Int*. 2016;16:1-14.