

한방추출 천연혼합물의 탈모 유발 쥐에 대한 발모 효과

곽진영 · 고영미 · 안지섭¹ · 박양춘^{2*} · 안택원*

대전대학교 한의과대학 사상체질의학교실, 1 : 탁터안 헤어플란트 의원, 2 : 대전대학교 한의과대학 내과학교실

Hair Growth Effect of Herbal Extract Mixture Ahn Tonic in Mice

Jin Young Kwak, Young Mee Koh, Ji Sup Ahn¹, Yang Chun Park^{2*}, Taek Won Ahn*

Department of Sasang Constitutional Medicine, College of Korean Medicine, Daejeon University,

1 : Dr. Ahn Hair Plant Clinic, 211-20, Nonhyun-dong, Gangman-gu, Seoul, 06105

2 : Department of Internal Medicine, College of Korean Medicine, Daejeon University

This paper aims to assess the effect of herbal extract mixture, Ahn Tonic, on hair growth and examine the stability of this percutaneous hair growth ointment. The hair on the back of the mice C57b1/6N was removed, and 1% of the TXN(testosterone) was then applied for a week to prevent the hair growth. The experimental group was then treated with Ahn Tonic, 0.2 mL per day. The degree of newly grown hair was observed with a vernier caliper. We also measured the proportion of the newly growing hair section to the entire shaved section in the 4th week and 8th week by distinguishing the section turning black from the shaved area. To observe the effect of the test chemical product on hair follicles and hair roots, the biopsy was executed between week 4 and week 8. Gene expressions, which operate as a factor for growing hair in the skin tissues extracted from each experimental animals, were also observed through a real-time PCR gene amplification method. The results showed that the Ahn tonic group had statistically significant hair restoring effect compared to the control group in terms of microscopy, biopsy, and gene expressions. Ahn Tonic is considered to have an impact on the hair growth.

keywords : Ahn Tonic, Hair loss, Herbal extracts

서 론

모발은 장식 기능과 함께 유해물질의 침입을 방지하고 체온을 조절하는 보호기능, 촉각과 통각 등의 자극을 전달하는 지각기능, 불필요한 증감속을 흡수하여 체외로 배출하는 기능을 가지고 있다¹⁾. 이러한 모발은 유전적 소인, 스트레스, 남성호르몬에 의한 모포 기능의 저하, 급성감염, 영양결핍, 국소감염 등의 다양한 원인에 의해 탈락한다. 그로 인해 모발이 존재해야 되는 부분에 모발이 없고 모발이 하루에 150개 이상 탈락되는 현상을 탈모라고 한다²⁾.

탈모는 상기 서술한 바와 같이 여러 가지 원인에 의해 발생되며 전 세계적으로 발병률이 증가하고 있다. 지금까지 다른 질병에 비해 상대적으로 가볍게 취급되었으나, 외모를 중시하는 현대 사회의 가치관으로 인해 이차적으로 정신적 스트레스를 발생시키고 삶의 질을 저하시키며 대인관계나 사회생활에 많은 지장을 주면서 최근 새로운 사회문제로 떠오르고 있다³⁾. 국민건강보험공단에 따르면 2015년 탈모증으로 진료 받은 환자는 20만 7904명으로 2010년

(18만928명)보다 14.9% 증가하였다고 한다⁴⁾. 과거에는 탈모를 노화의 일부 또는 남성호르몬으로 인한 남성의 전유물로 생각하였다. 그러나 지금은 남녀노소 관계없이 발생하는 전 인구의 질환으로 그 개념이 확대되고 있는 실정이다.

이처럼 탈모치료의 중요성이 부각되는 상황에서 현재 FDA에서 승인된 대표적인 약물에는 경피도포용 minoxidil과 경구용 finasteride가 있으나 발모효과 이외에도 여러가지 부작용이 발생한다. minoxidil은 소양증(Pruritus), 홍반(erythema), 체중증가(weight gain), 부종(edema), 심장박동 증가(Cardiacimpulse increase), 건조함(dryness) 등의 부작용을 나타내는 것으로 보고 되어 있다⁵⁾. Finasteride는 장기간 복용할 경우 남성에게 발기 부전, 여성에게 기형아 출산과 같은 성기능 부작용이 발생할 수 있다고 보고되었다⁶⁾. 따라서, 뛰어난 발모 효과를 보이면서 부작용 우려가 적은 천연물 소재의 탈모 치료제 개발이 필요하다⁷⁾. 상기 연구에서는 탈모에 효과가 있는 경피도포용 약물인 minoxidil과 발모 효과가 있는 천연생약 추출물을 실험용 쥐를 이용하여 효과를 비교

Taek-Won Ahn, Daejeon University/Cheonan Traditional Herbal Medicine Clinic, 4, Notasan-ro, Seobuk-gu, Cheonan-si, Chungcheongnam-do, Republic of Korea

E-mail : twahn@dju.kr · Tel : +82-41-521-7535

Yang-Chun Park, Daejeon University/Dunsan Korean Medicine Hospital, 75, Daedeok-daero 176beon-gil, Seo-gu, Daejeon, Republic of Korea

E-mail : omdpyc@dju.kr · Tel : +82-42-470-9126

Received : 2019/09/25 · Revised : 2019/11/03 · Accepted : 2019/11/26

© 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/kjpp.2019.12.33.6.363>

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

확인하고, 이를 경피 도포용 발모 촉진제로 제조하여 새로운 탈모 치료제의 가능성을 확인하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 실험동물

1) Ahn Tonic

Ahn Tonic(한방추출 천연혼합물 토닉제)은 대한민국 천안에 위치한 대전대학교 부속 천안한방병원에서 공급하였다. 투명한 액상 형태의 혼합물로서, 구성성분은 아래 Table 1과 같다.

Table 1. The components of Ahn Tonic

성분명	용량	단위
정제수	42.56	mg
살리실산	0.30	mg
L-멘톨	0.30	mg
덱스판테놀	0.20	mg
아연피리티온액	0.50	mg
코카미도프로필베타인	15.00	mg
C14-16올레핀설폰산나트륨	12.00	mg
티이에이-코코일글루타메이트	20.00	mg
향료	0.60	mg
프로필렌글리콜	2.00	mg
폴리쿼터늄-7	0.50	mg
디소듐이디티에이	0.03	mg
히드로라이즈드케라틴	0.30	mg
소듐라우릴로일하이드라이지드실크	0.30	mg
세트리모늄클로라이드	1.30	mg
아스코빅에시드	0.10	mg
피이지-12디메치콘	2.00	mg
비스(C13-15 알콕시)피지-아모디메치콘	1.50	mg
세라마이드	0.30	mg
메칠파라벤	0.10	mg
메칠클로이소치아졸리논*메칠이소치아졸리논액	0.03	mg
로즈마리추출물, 창포추출물, 녹차추출물	각각 0.01	mg
도인추출물, 구기자추출물	각각 0.01	mg
고삼추출물, 알로에베라잎추출물, 헨나추출물	각각 0.01	mg
Total	100	mg

2) 실험동물

실험동물은 실험의 용이성을 고려하여 C57BL/6N쥐를 사용하였다. 실험동물은 (주)오리엔트바이오에서 구입한 체중 25g 내외의 수컷 7주령 C57BL/6N 정상생쥐를 이용하였으며, 각각의 실험군에는 10마리씩 배정하였다. 10마리 중 5마리는 4주차까지, 나머지 5마리는 8주차까지 관찰하여 각각 시험 시작일 부터 4주후, 시작일 부터 8주후의 변화를 관찰하였다. 실험의 정확성을 위하여 모두 출생날짜가 유사한 것을 이용하였다. 동물실험의 윤리적, 과학적 타당성 검토 및 효율적인 관리를 위하여 대전대학교 동물실험윤리 위원회 (Institutional Animal Care and Use Committee : IACUC)의 승인(승인번호 :DJUAR2017-036)을 받았다.

3) 시약

본 실험에 사용된 시약 diethyl pyrocarbonate(DEPC), Naphthylethylene diamine dihydrochloride, Sulfonylami-de, 2',7'-Dichlorofluorescin diacetate, Sodium Nitrite, chloroform, trichloroacetic acid, isopropanol, Tris-HCl, KCl,

MgCl₂, Dubecco's modified Eagle's medium(DMEM) 배양액, dulbecco's phosphate buffered saline(D-PBS), sulforhodamin B(SRB), 2-isopropanol, sodium dodecyl sulfate(SDS), Streptom-mycin 등은 Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였다. 우태아혈청(fetal bovine serum, FBS)은 Gibco (Paisley, UK)제품을, RNase inhibitor와 M-MLV RT는 Invitrogen (CA, USA) 제품을, RNAs-olB는 Tel-Test (TX, USA) 제품을 사용하였다. 마우스 GAPDH probe set (VIC / MGB Probe, 4352339E), Taqman master mix와 SYBR master mix는 ABI (CA, USA)사 제품을, EZ-Cytox는 대일바이오텍 (Suwon, Korea), cyclosporin A는 중외제약 (Seoul, Korea)제품을 기타 일반 시약은 특급 시약을 사용하였다.

4) 기기

본 실험에서는 열탕추출기 (DWT-1800T, 대웅, Seoul, Korea), 감압 증류장치 (rotary vaccum evaporator, BUCHI B-480, Flawil, Switzerland), 동결 건조기 (freeze dryer, EYELA FDU-540, Tokyo, Japan), CO₂ 배양기 (Forma scientific Co., OH, USA), 원심분리기 (Hanil scientific INC., Gimpo, Korea), plate shaker(Lab-Line, IL, USA), spectrophotometer (Shimazu, Kyoto, Japan), Bio-freezer (Sanyo, Osaka, Japan), Quantitative Real-Time PCR (Applied Biosystems, CA, USA), ELISA reader (Molecular Devices, CA, USA), flow cytometer (Becton Dickinson, CA, USA), heating mantle (An-gelia 7700, Angel co. Busan, Korea), image analysis software (Each systemships with 1 full version of Quantity One and unlimited copies of Quantity OneBasicMode. Bio-Rad, USA), 광학현미경 (Olympus, Tokyo, Japan) 등을 사용하였다.

2. 실험방법

1) 시료 투여 방법

C57BL/6N 생쥐의 등을 제모한 후 각각 군당 10마리씩 모두 4군으로 나누어 실험하였다. 정상군을 제외한 나머지 군은 1% TXN(Testosterone)으로 1주일간 도포하여 발모를 억제시켰다. 그 후 실험군 2군을 각각 1일 2회씩 경피 도포용 발모 촉진제 5% MXD(minoxidil), Ahn Tonic(한방추출 천연혼합물 토닉제, 0.2 ml/day)을 등 피부에 도포한다. 1% TXN 대조군은 동일한 스트레스를 주기 위하여 일정량의 증류수로 수차례 씻은 다음 생리식염수를 스프레이로 동일한 정량을 도포한다.

2) 관찰방법

(1) 발모성장의 육안적 관찰 비교

① 모발 길이 측정

실험 전 등쪽 체모를 애니멀 클리퍼(animal clipper)로 짧게 제거하여 제모 한다. 성장한 체모의 길이는 시료 투여 후 0일, 2주, 4주 후 생장기 모발 성장치를 버니어캘리퍼스로 0.1mm까지 관찰한다.

② 체모에 대한 image analysis software 분석

실험 시작 후 0일, 2주, 4주, 6주, 8주 후 털이 자라는 상태를 확인하기 위해 에테르로 마취한 후 사진촬영을 실시하였다. 사진기

는 Nikon사의 D70모델 (Tokyo, Japan)을 사용한다. 이 사진을 image analysis software (Each systemships with 1 full version of Quantity One and unlimited copies of Quantity OneBasicMode. Bio-Rad, USA)로 분석한다. 전체 삭모 부위 증생장기 모발이 자란 부위의 비 (전체 삭모 부위 면적 중 검정색으로 변한 면적의 비)를 구한다.

(2) 조직학적 분석

시험 4주후와 8주후에 시료도포부위를 적출한 후 10% 포르말린 완충액을 사용하여 고정한다. 통상적인 방법의 조직처리과정을 거쳐 파라핀에 포매한 후, 마이크로톰 (HM-315model, Microm Co., Germany)을 이용하여 제작한 4μm의 파라핀 조직절편을 Hematoxylin & Eosin 염색하여 광학현미경 (Olympus, Tokyo, Japan)으로 모낭조직의 조직학적 변화를 관찰한다.

(3) 유전자발현분석

각 실험동물로부터 적출한 피부조직들의 유전자 발현 양상을 real-time PCR 증폭법을 사용하여 알아본다. 피부 조직은 RNAsolB (Tel-Test) 용액을 사용하여 각 조직으로부터 RNA를 추출한 뒤 One-step SYBR GreenPCR kit (AB science)를 사용하여 cDNA 및 real-time PCR 분석을 한다. 지방 조직에 RNAsolB 500 μl를 넣고 homogenizer로 조직을 분쇄하여 여기에 chloroform (CHCl₃) 50 μl를 첨가한 후 15초간 다시 혼합한다. 이를 얼음에 15 분간 방치한 후 13,000 rpm에서 원심 분리한 후 약 200 μl의 상층액을 회수하여 2-propanol 200 μl와 동량 혼합 후 천천히 흔들고 얼음에서 15 분간 방치한다. 이를 다시 13,000 rpm에서 원심 분리한후 80% EtOH로 수세하고 3분간 vacuum pump에서 건조하여 RNA를 추출한다. 추출한 RNA는 diethylpyrocarbonate (DEPC)를 처리한 20 μl의 증류수에 녹여 heating block 75°C에서 불활성화 시킨 후 first strandcDNA합성에 사용한다. 역전사 (reversetranscription) 반응은 준비된 total RNA 3 μg과 DNase I (10U/μl) 2U/tube를 37°C heating block에서 30분간 반응한 후 75°C에서 10분 동안 변성시키고, 이에 2.5 μl 10 mMdNTPs mix, 1 μl random sequence hexanucleotides (25 pmole/ 25 μl), RNA inhibitor로서 1 μl RNase inhibitor (20 U/μl), 1 μl 100 mM DTT, 4.5 μl 5×RT buffer (250 mM Tris-HCl, pH 8.3, 375 mM KCl, 15 mM MgCl₂)를 가한 후, 1 μl의 M-MLV RT (200 U/μl)를 다시 가하고 DEPC 처리된 증류수로서 최종 부피가 20 μl가 되도록 한다. 이 20 μl의반응 혼합액을 잘 섞은 뒤 2,000 rpm에서 5초간 원심침강하여 37°C heating block에서 45분 동안 반응시켜 first-strand cDNA를 합성한 다음, 95°C에서 5분 동안 방치하여 M-MLV RT를 불활성화 시킨 후 합성이 완료된 cDNA를 polymerase chain reaction (PCR)에 사용한다. Realtime quantitative PCR은 Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR system (Applied Biosystems, USA)를 이용하여 수행한다.

유전자 발현은 TaqManprobe (FAM dye-labeled, ABi, USA)를, internal standard를 Mouse GAPDH probe set: Endogenous Control (VIC® / MGB Probe, Probe limited) from AppliedBiosystems (4352339E)를 사용하였고, primer의 최

종 농도가 200 nM이 되게 반응시켰다. Real time quantitative PCR의 조건은: pre-denaturation은 2 min at 50 °C, 10 min 94 °C, 그리고 40 cycles을 0.15 min at 95 °C, 1 min at 45 °C에서 수행한다. 실험군과 대조군은 internal standard로 GAPDH를 사용하여 target group의 Quantitative PCR

$$y = x(1+e)^n$$

x = startingquantity
y = yield
n = number of cycles
e = efficiency

로 계산하여 RQ(relative quantitative)을 측정한다⁸⁾.

Table 2. Mouse Probe & Oligonucleotide

Gene	Probe & Primer	Sequence
ALP	sence	5'-ATCTTTGGTCTGGCCCCATG-3'
	antisence	5'-ATGCAGGCTGCATACGCCAT-3'
Versican	sence	5'-TGGAAGGCACAGCAGTTTACC-3'
	antisence	5'-TCATGGCCACACGATTAC-3'
KGF	sence	5'-GACATGGATCCTGCCAACTT-3'
	antisence	5'-AATTCCAAGTCCACTGTCC-3'
HGF	sence	5'-CGAGGCCATGGTCTATACT-3'
	antisence	5'-ACACCAGGGTGATTGAGACC-3'
HEY1	sence	5'-TTTCCCCTCCCTCATTCTACATCA-3'
	antisence	5'-TTCTCTTTCCGGCTCCTCCACTTA-3'
GAPDH	VIC	TGCATCCTGCACCACCAACTGCTTAG

3. 통계처리

다양한 실험으로부터 얻은 결과는 mean±standard error로 기록하였고, 유의성 검증은 Student's T-test 분석방법을 이용하여 결정하였다.

결 과

1. 육안적 조건

1) 모발 성장 길이 측정

생장기 모발 성장치를 버니어캘리퍼스로 0.1mm까지 관찰한 결과 4주 후 1% TXN+5% MXD 실험군(이하 5% MXD 실험군)의 모발 성장 길이가 1% TXN 대조군(이하 대조군)에 비하여 유의성 있게 증가되었다(p<0.001). 1% TXN + Ahn Tonic 실험군(이하 Ahn Tonic 실험군)에서 모발 성장 길이가 1% TXN 대조군에 비하여 유의하게 증가하였다(p<0.01)(Fig. 1).

2) 체모에 대한 image analysis software 분석

양모의 육안관찰을 위하여 사진을 찍어 분석한 결과, 실험 시작 4주 후 5% MXD 실험군(p<0.01)과 Ahn Tonic 실험군(p<0.01)에서 등 부분의 전체 삭모 부위 중 생장기 모발이 자란 부위의 비 (전체 삭모 부위 면적 중 검정색 변한 면적의 비)가 223.5±2.23, 208.25±3/83으로 대조군의 181.30±10.61에 비해 통계학적으로 유의성 있게 증가하여 발모 증가가 관찰된다. 실험 8주후 1% TXN 대조군이 194.05±5.96인데 비하여 Ahn Tonic 실험군(p<0.05)과 5% MXD 실험군(p<0.001)이 각각 216.8±7.19와 240±6.01로 모발 이 자란 부위가 유의성 있게 증가하였다(Fig. 2-4).

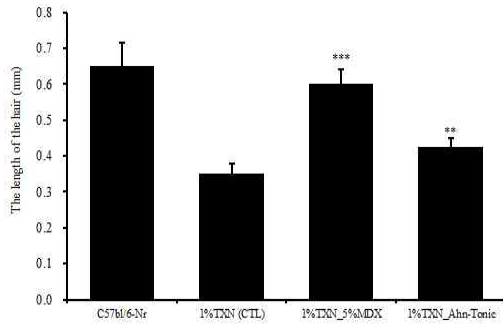


Fig. 1. the length of the hair on week 4. Normal group: normal C57BL/6N mice, 1%TXN(CTL): Saline administration after 1% Testosterone for 1 week, 1%TXN_5%MDX: 5% Minoxidil administration after 1% Testosterone for 1 week, 1%TXN_Ahn Tonic: Ahn Tonic administration after 1% Testosterone for 1 week. Values are expressed as mean \pm S.E. ($n = 5$). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, and *** $p < 0.001$ (compared with HFD-control) express significant differences and they are determined by student's test.

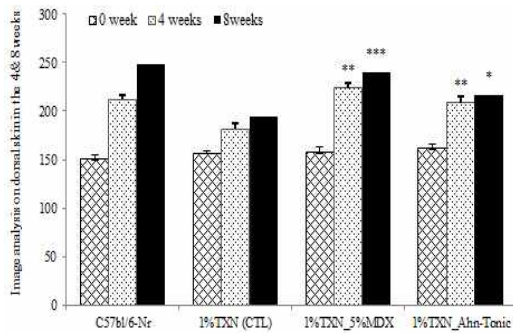


Fig. 2. Image analysis on dorsal skin on week 4 and 8. Normal group: normal C57BL/6N mice, 1%TXN(CTL): Saline administration after 1% Testosterone for 1 week, 1%TXN_5%MDX: 5% Minoxidil administration after 1% Testosterone for 1 week, 1%TXN_Ahn Tonic: Ahn Tonic administration after 1% Testosterone for 1 week. Values are expressed as mean \pm S.E. ($n = 5$). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, and *** $p < 0.001$ (compared with HFD-control) express significant differences and they are determined by student's test.

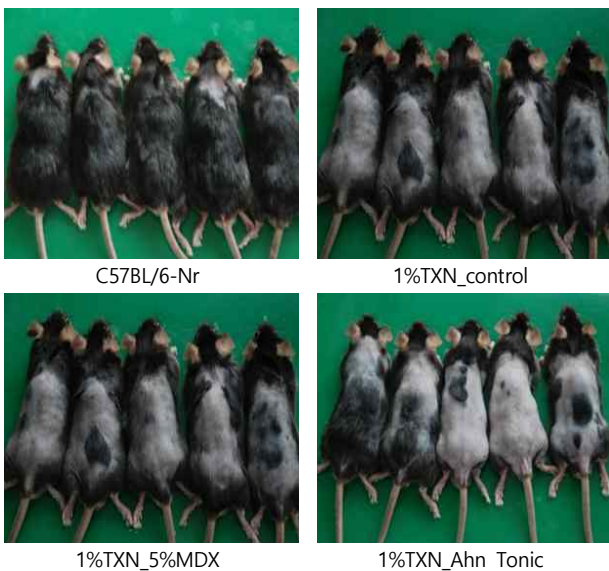


Fig. 3. Comparison of hair regrowth in C57 BL/6N mice for 4 weeks.

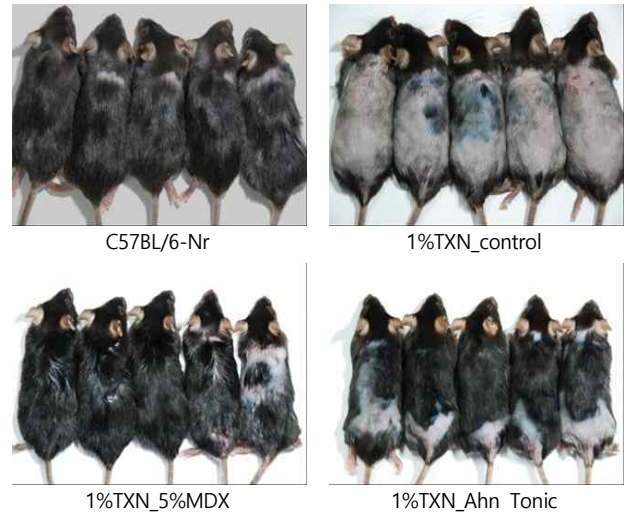


Fig. 4. Comparison of hair regrowth in C57BL/6N mice for 8 weeks.

2. 발모의 조직학적 변화 분석

시험동물에 치료 도포 4 주후에 조직검사를 한 결과, 대조군에 비하여 5% MXD 실험군, Ahn Tonic 실험군이 모낭의 수와 크기가 많고 증가하였다. 그리고 최종 치료 도포 8 주후에 조직검사한 결과에서는 대조군에 비하여 5% MXD 실험군, Ahn Tonic 실험군이 모낭의 수와 크기가 많고 증가하였다. 또한, 염증조건이나 기타 병리학적 소견은 발견되지 않았고, 모낭의 모양이 길게 형성되었다 (Fig. 5).

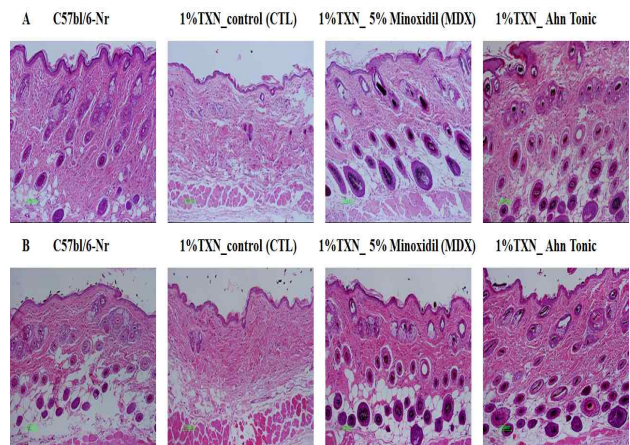


Fig. 5. A: Histological changes of hair follicles in the dorsal skin of C57BL/6N mice (H&E, x40), after 4 weeks. B: Histological changes of hair follicles in the dorsal skin of C57BL/6N mice (H&E, x40), after 8 weeks.

3. 발모 유전자 발현 분석

TXN 유도 발모 동물 모델에서 유전자 발현 분석 결과, Ahn Tonic 실험군에서 대조군에 비하여 통계학적으로 유의성 있게 ALP mRNA($p < 0.05$), HEY1 mRNA($p < 0.05$), HGF mRNA($p < 0.001$), KGF mRNA($p < 0.01$), Versican mRNA($p < 0.001$) 유전자 발현의 증가가 관찰되었다. MDX 실험군에서 ALP mRNA($p < 0.05$), HGF mRNA($p < 0.05$), KGF

mRNA(p<0.001), Versican mRNA(p<0.01) 유전자 발현의 증가가 관찰되었다.

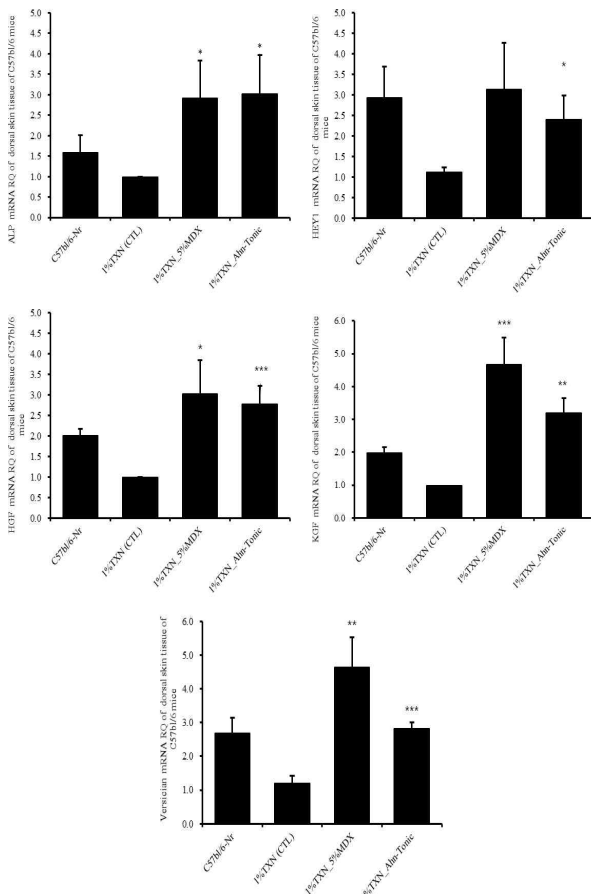


Fig. 6. ALP, HEY1, HGF, KGF, Versican mRNA gene expression patterns in experiment. To quantify ALP, HEY1, HGF, KGF, Versican mRNA gene expression, RT-PCR analysis was carried out. Normal group: normal C57BL/6N mice, 1%TXN(CTL): Saline administration after 1% Testosterone for 1 week, 1%TXN_5%MDX: 5% Minoxidil administration after 1% Testosterone for 1 week, 1%TXN_Ahn Tonic: Ahn Tonic administration after 1% Testosterone for 1 week. Values are expressed as mean ± S.E. (n = 5). *p < 0.05, **p < 0.01, and ***p < 0.001 (compared with HFD-control) express significant differences and they are determined by student's test.

고찰

현재 FDA에서 승인된 대표적인 약물에는 경피도포용 minoxidil과 경구용 finasteride가 있다. Minoxidil은 원래 혈관평활근을 이완시켜 혈압을 떨어트리는 용도로 사용되다가 발모를 촉진하는 현상이 발견되어 발모제로 연구되었다. Minoxidil의 발모기전은 명확하게 밝혀지지 않았지만 혈관평활근을 이완시켜 모낭 상피세포의 성장과 분화를 촉진시켜, 휴지기를 단축시키고 성장기로 빨리 진입하게 만들어 성장기 단계에 오래 머물게 하는 것으로 추정된다⁷⁾. 그러나 minoxidil은 각종 피부질환과 심장질환 등의 부작용을 나타내는 것으로 보고되어 있다⁵⁾. 양성 전립선 비대증의 치료제로 사용되다 탈모방지 효과가 있다는 것이 발견된 경구용

Finasteride는 체내 5α-reductase를 억제하여 Testosterone이 탈모를 유발하는 DHT로 바뀌는 것을 방해한다⁹⁾. 그러나 장기간 복용할 경우 성기능 부작용이 발생할 수 있다⁶⁾. 이렇게 현재 유통되는 대표적 탈모 치료 약물이 많은 부작용을 가지고 있어 부작용이 적은 천연소재의 개발이 필요한 실정이다. 따라서 천연생약추출물을 이용한 경피 도포용 발모 촉진제를 개발하기 위하여 상기 연구에서는 탈모에 효과가 있는 경피도포용 약물인 minoxidil과 발모효과가 있는 천연생약 추출물을 실험용 쥐를 이용하여 효과를 비교확인 하였다.

한의학에서는 탈모를 유풍(油風)이라고 하며 반독(斑禿), 귀지두(鬼臚頭), 귀체두(鬼剃頭), 백독(白禿), 적독(赤禿) 등으로도 부른다. 이런 탈모의 원인은 기혈허(氣血虛), 혈허(血虛), 어혈(瘀血), 혈열(血熱), 풍사(風邪), 습열(濕熱) 등이 있다. 수습(水濕)이 중초(中焦)에 쌓여 모발의 영양흡수를 방해하므로 습열(濕熱)을 제거해줘야 한다¹⁰⁾. <素問.五臟生成篇>에¹¹⁾ “발위혈지여(髮爲血之餘)”라는 구절을 보면 혈(血)이 충분하면 모발이 풍성하고 윤택해지는 것을 알 수 있다. 따라서 탈모를 치료하기 위해서는 혈(血)을 보충해주어야 하고 혈(血)은 기(氣)의 추동(推動)작용이 필요하니 기(氣)도 보충해주고 혈(血)의 순행이 원활하지 못해 생긴 어혈(瘀血)도 제거해 주어야 한다. 또한 “신지합골야(腎之舍骨也), 기영재발야(其榮在髮也)”라는 구절을 통해 신정(腎精)과 모발이 밀접한 관련이 있는 것을 알 수 있고 사실상 정(精)과 혈(血)은 근원이 같으므로 보음약(補陰藥)과 보양약(補陽藥)으로 정(精)을 보충해 탈모를 치료한다.

본 연구에서 사용한 시료에는 창포, 녹차, 도인, 구기자, 고삼이 포함되어 있다. 창포(菖蒲; *AcoriGraminei Rhizoma*)는 천남성과에 속한 다년생 초본인 석창포의 뿌리를 건조한 것으로化痰開竅, 化濕行氣, 祛風利痺, 消腫止痛의 효능이 있어 열로 인한 정신질환, 이명, 복부통증, 타박상, 피부질환을 치료한다¹²⁾. 또한 창포는 항산화 활성과 항균 및 항염증, 항균효과가 뛰어나 피부질환에 폭넓게 사용할 수 있을 것으로 보고되고 있다¹³⁾.

고삼(苦參, *Sophorae Radix*)은 콩과에 속한 多年生 草本인 苦參의 皮부를 벗긴 根으로, 性은 寒하고 맛은 苦하다. 淸熱燥濕, 祛風殺蟲, 利尿 효능이 있어 장염, 설사, 황달, 배뇨장애, 피부소양, 음부피부질환, 습진등을 치료한다¹²⁾. 고삼추출물은 사람의 모낭 조직과 외모근초 세포의 증식에 효과가 있다고 보고되었다¹⁴⁾.

구기자(枸杞子, *Lycii Fructus*)는 가지과에 속한 蔓生灌木인 구기자나무 또는 기타 동속식물의 성숙한 果實로, 性은 平하고 맛은 甘하다. 滋補肝腎, 益精明目 효능이 있어 허리통증, 이명, 어지러움, 피로, 잔노감 등을 치료한다¹³⁾. 구기자를 물과 에탄올로 추출하여 DPPH, PF, TBARS를 관찰한 결과 항산화, 항고혈압 효과가 있는 것이 나타났다¹⁵⁾.

녹차(綠茶)는 쌍떡잎식물 측막태좌목 차나무과의 상록교목 또는 관목인차(茶)나무(*Camelliasinensis*) 잎을 건조한 것이다. 녹차는 epicatechin, epigallocatechin, epicatechin gallate 및 Catechin을 함유하고 있고 그 중 Catechin은 항산화, 노화억제, 항균, 항염효과와 비만과 암을 방지하는 효능이 있다¹⁶⁾. 또한 연구결과에 따르면 녹차 추출물은 피부 염증을 일으키는 미생물에 대하여 항균, 항산화 효과가 뛰어나 피부질환 개선에 효과가 있다고 한다¹⁷⁾.

도인(桃仁, *Persicae Semen*)은 장미과에 속한 落葉 小喬木인

복숭아나무와 산복사의성숙한 種子를 건조한 것으로, 性は 평하고 맛은 苦甘하다. 活血祛瘀, 潤腸通便하는 효능이 있어 생리불순, 복통, 타박상, 변비를 치료한다¹²⁾. 도인은 항산화 효과가 있고 f tyrosinase 억제효과, 아질산염소거능 및 항균 효과가 있으며 미백 기능이 있어 화장품에 응용 가능성이 있다¹⁸⁾.

습(濕을) 없애고 비위(脾胃)의 기능을 원활하게 하여 모발이 영양분을 잘 흡수하고 어혈(瘀血)을 제거하여 모발을 윤택하고 풍부하게 하는 효과를 주기위해 이렇게 청열조습(淸熱燥濕), 화위화위(化濕和胃), 보음(補陰), 항염증효과, 화어(化瘀) 등의 효과를 가진 5가지의 한약재를 선택하였다.

C57BL/6N 쥐는 생후부터 모든 모낭이 모발성장주기의 성장기로 진입하면서 털이 자라기 시작, 약 3주경 휴지기로 전이된 다음, 바로 2차 성장기로 진입한다. 6-8주쯤 모든 모낭이 휴지기로 전이 되는 것으로 알려져 있다. 이 휴지기에 실험동물의 자체적 모발 성장 인자에 의한 영향이 배제되므로, 실험 물질만의 효능을 평가하기에 적절하다. 또한, melanocyte가 모낭에만 한정적으로 존재하고 있으며, melanin 합성이 모발 성장 주기와 잘 일치되어 휴지기의 경우, 등판 피부색이 붉은 색을 띠고 성장기의 경우 진회색을 띠어 피부색으로 모발 성장주기를 판정할 수 있어 휴지기를 지난 성장기 도입 시기를 눈으로 볼 수 있으므로, 실험의 종료 시점을 쉽게 찾을 수 있는 장점이 있어 실험동물로 선정하였다¹⁹⁾.

본 실험에서 모발 성장길이가 1% TXN 대조군에 비해 Ahn Tonic 실험군과 양성대조군인 5% MXD 실험군이 유의적으로 증가되었고 전체 삭모 부위 중 생장기모발이 자란 부위의 비가 통계학적으로 유의성 있게 증가 하였다. 조직검사상 모낭의 수와 크기, 유전자 발현정도가 1% TXN 대조군에 비해 Ahn Tonic 실험군에서 유의적으로 증가되었고 양성대조군인 5% MXD 실험군과 비슷한 수준이었다.

ALP mRNA 유전자는 진피 유두에 모여있는 모세혈관에 영양분을 공급하여 발모 작용을 활발하게 해주는 것으로 알려져 있으며 모발 재생이 일어나는 부위에서 현저한 활성증가를 나타낸다. HEY1 mRNA 유전자는 노치 신호의 매개체로서 androgen 수용체의 보조억제인자이다. 이 유전자는 모발에 속하는 핵 단백질을 코드화하고 기본 나선고리 나선구조의 전자 억제물질들의 증폭자이다²⁰⁾. HGF mRNA 유전자는 모발성장의 강력한 조절인자로 모공 발달과 모발 싸이클에서 중요한 역할을 한다. 모유두 세포증식과 분화가활발하고 모발을 유지시켜 주는 성장기때 혈관 신생에 관여하며 탈모를 방지시켜 주는 성장인자이다²¹⁾. KGF는 섬유아세포에서 분비되며 상피세포 분열촉진인자로 상피세포 증식에 중요한 매개체로 모발 성장을 자극한다²²⁾. Versican은 성장기에서 가장 강하게 발현되는 모낭 활성인자로, 퇴행기와 휴지기에서는 감소하여 모유두세포의 증식을 유도하고 성장기를 유지시켜 모발이 정상적으로 유지될 수 있도록 돕는다²³⁾. 따라서 TXN 유도 발모동물모델에서 발모촉진 유전자인 ALP mRNA 유전자, HGF mRNA 유전자, KGF mRNA 유전자, Versican mRNA 유전자 발현이 통계학적 유의성 있게 증가하는지를 관찰하여 Ahn Tonic이 발모를 촉진하는 것을 확인할 수 있었다.

시험기간 동안 실험물질을 도포한 모든 실험동물에서 특별한

이상증상(physical sign)이 관찰되지 않았으나, 체중변화와 독성관찰을 통해 안전성에 대한 추가연구가 필요할 것으로 사료된다.

본 논문에서는 심각한 사회 문제로 떠오르고 있는 탈모를 부작용을 최소화 하여 치료할 수 있는 천연물 발모제 개발을 위해 Ahn Tonic을 이용한 발모관리를 통해 기존 발모제 MXD과 탈모 개선 효과를 비교 검토하였고 실험 결과, Ahn Tonic이 생장기 모발의 발모를 촉진하여 양모 효능을 나타낸다는 것을 확인할 수 있었다.

결 론

1% TXN을 도포하여 탈모를 유발한 C57b1/6N 생쥐에 Ahn Tonic을 도포하여 발모에 미치는 영향을 알아본 결과 1% TXN 대조군과 MXD 실험군과 비교하여 다음과 같은 유의한 결론을 얻었다.

생장기 모발 성장치를 버니어캘리퍼스 0.1mm까지 관찰한 결과, 4주후 1% TXN 대조군에 비하여 Ahn Tonic 실험군이 유의성 있게 증가하였고 5% MXD 실험군의 모발 성장도 유의성 있게 증가되었다.

전체 삭모 부위 중 생장기모발이 자란 부위의 비 (전체 삭모 부위 면적 중 검정색 변한 면적의 비)를 시험 4 weeks와 8 weeks 째 측정 한 결과, 1% TXN 대조군에 비하여 Ahn Tonic 실험군과 5% MXD 실험군 모두 모발이 자란 부위가 통계학적으로 유의성 있게 증가하였다.

조직검사 결과, 대조군에 비하여 5% MXD, Ahn Tonic 실험군이 모낭의 수와 크기가 증가하였다. 또한, 염증조건이나 기타 병리학적 소견은 발견되지 않았고, 모낭의 모양이 길게 형성되었다.

발모유전자 6개의 발현을 real-time PCR을 사용하여 분석한 결과 Ahn Tonic 실험군에서 유전자 발현이 통계학적으로 유의성 있게 증가되었다.

이상의 결과를 통해 Ahn Tonic은 탈모를 유발한 C57b1/6N 생쥐에서 발모를 촉진하는데 유의적인 효과가 있다고 볼 수 있으며 이러한 기전을 바탕으로 탈모에 대한 대체 치료제로 이용가능 할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 한국보건산업진흥원/중부권 한의약 임상시험센터(과제번호:HI15C0006)의 지원을 받아 진행되었다.

References

1. Lee SH, Lee JR. Association of Diffuse Hair loss of Adult Male on Stress, Self-confidence, and Depression. J. Kor. Soc. Cosm. 2010;16(4):1171-9.
2. Noh SS. Dermatoloty. Seoul: IBC corporation; 2002. p. 807-11.
3. Stough D, Stenn K, Haber R, Parsley WM, Vogel JE, Whiting DA, et al. Psychological Effect, Pathophysiology,

- and Management of Androgenetic Alopecia in Men, an academic dissertation. Hot Springs: The Stough Hair Center; 2005. p. 1316-22.
4. National Health Insurance Service. Statistical data of hair loss [Internet]. 2016. Available from: https://www.data.go.kr/dataset/fileDownload.do?atchFileId=FILE_000000001532686&fileDetailSn=1
 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, an academic dissertation. Bonn: Department of Dermatology, University of Bonn; 2005. p. 53-5.
 6. McClellan KJ, Anthony M. Finasteride. *Drugs*. 1999;57(1):111-26.
 7. Messenger AG, Rundegren J. Minoxidil, mechanism of action on hair growth. *Br J Dermatol*. 2004;150(2):186-94.
 8. Siebert PD & Larrick JW. Competitive Pcr. *Nature*, 1992; 359, 557-8.
 9. Diani AR, Mulholland MJ, Shull KL, Kubicek MF, Johnson G, Schostarez HJ, et al. Hair growth effects of oral administration of finasteride, a steroid 5 alpha-reductase inhibitor, alone and in combination with topical minoxidil in the balding stump-tail macaque. *J Clin Endocrinol Metab*. 1992 Feb;74(2):345-50.
 10. Kim NW, Roh SS. A literatural studies on the yupung. *J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol* 1998;11(1):162-79.
 11. Kang JW, Ko MH, Koo SY, Kim SH, Kim YM, Kim T, et al. Antiaging medicine. Seoul:Gunjachulpansa. 2011.
 12. Committee of publishing textbook Korean Medicine. *Herbalogy*. 2nd edition. Seoul, Korea:YoungLim;2005. p. 225-2010.
 13. Beom HJ, Eun JB, Choi JY, Lee SC, Lee JB. *J. Dermatol*. 2007;59(2):203.
 14. Takahashi T. The effect of Sophora root extract on the anagen elongation and isolation of active compound. Society for Hair Science Research. Japan; 2001:71.
 15. Cho YJ, Chun SS, Cha WS, Park JH, Lee KH, Kim JH, et al. Antioxidative and antihypertensive effects of Lycii fructus extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2005;34(9):1308-13.
 16. Yeo MK. *Dermatology*. Committee of publishing textbook Dermatology. Seoul, Korea: 2001. p. 1-25.
 17. Kim YL, Han JS. A Study of Antimicrobial and Anti-oxidative Activities on Skin Inflammation-causing Microbes of Supercritical Green Tea Extract. *J.kor.Soc.B&A*. 2014;15(2):71-80.
 18. Jo WA, A Study on the Cosmeceutical Activites of Persicae Semen. The Research and Information Service. Cheong ju, Korea: 2005. p. 197-208.
 19. Paus R, Link RE. The psoriatic epidermal lesion and anagen hair growth may share the same "switch-on" mechanism. *Dermatopathology Laboratory, Yale University School of Medicine, New Haven, Connecticut*: 1998. p. 467-76.
 20. Meister C, Externbrink A, Klamt B, Gessler M. Hey genes: a novel subfamily of hairy-and Enhancer of split related genes specifically expressed during mouse embryo genesis. *Institute of Physiological Chemistry I, Wuerzburg, Germany*: 1999. p. 173-7.
 21. Lindner G, Menrad A, Gherardi E, Merlino G, Welker P, Handjiski B, et al. Involvement of hepatocyte growth factor/ scatter factor and met receptor signaling in hairfollicl, Department of Dermatology, Charité, Humboldt-University, Berlin, Germany: 2000. p. 319-32.
 22. Kondratov RV, Kondratova AA, Gorbacheva VY, Vykhovanets OV, Antoch MP. Early aging and age-related pathologies in mice defivcient in BMAL1, the core component of the circadianclock. *Department of Cancer Biology, Lerner Research Institute, Ohio, USA*:2006. p. 1868-73.
 23. Wight T. Versican: a versatile extracellular matrix proteoglycan in cell biology. *Department of Vascular Biology, The Hope Heart Institute, Seattle, USA*: 2002. p. 617-23.