

우슬의 에탄올 추출물이 모발 성장에 미치는 영향

이미자^{1#}, 최문열², 김유진², 김미려^{2*}, 유왕근^{3*}

1 : 대구한의대학교 일반대학원 보건학과, 2 : 대구한의대학교 한의과대학 본초약리학교실
3 : 대구한의대학교 보건학부

Effect of ethanol extract from *Achyranthis Radix* on hair growth

Mi-Ja Lee^{1#}, Moon-Yeol Choi², Yoo Jin Kim², Mi Ryeo Kim^{2*}, Wang Keun Yoo^{3*}

1 : Department of Public Health Graduate School, Daegu Haany University, Gyeongsan, Gyeongbuk, Korea
2 : Department of Herbal Pharmacology, Daegu Haany University, Daegu, Korea
3 : Department of Health Science, Daegu Haany University, Gyeongsan, Gyeongbuk, Korea

ABSTRACT

Objective : As more and more people are interested in appearance in modern society, the increasing number of hair loss population can have an important impact on psychological and social problems such as depression and inappropriate interpersonal symptoms. Therefore, much research is being done on treatments for alopecia using herbal extracts with relatively few side effects. This study was investigated about the effect of *Achyranthis Radix* (AR) extract with ethanol solvent on hair growth.

Methods : We determined the promoting efficacy of AR-ethanol extract compared with minoxidil (MNXD) on the growth of human hair dermal papilla cells (HDPCs). Cell viability was measured by MTT assay and cell proliferation was confirmed by cell cycle analysis from flow cytometry in HDPCs. Also, we monitored the safe concentration range through MTT assay. And protein expression of hair growth-related genes (insulin-like growth factor 1 (IGF-1), Wnt3a, Protein kinase B (Akt), Extracellular signal-regulated kinase (Erk)) was monitored by western blot.

Results : On cell cycle analysis, the G2/M phase was higher than that of the DW group in AR ethanol extract group at 0.05 and 0.1 mg/ml. All protein expression levels of HDPCs were increased in AR ethanol extract groups and the MNXD group, compared to the DW group, respectively.

Conclusion : As mentioned above, AR extract increased cell proliferation and the protein expression of IGF-1, Wnt3a, Akt, Erk in HDPCs. These results suggest that AR ethanol extract has promoted hair growth and it might be potential hair growth supplement.

Key words : *Achyranthis Radix*, Hair growth, Cell cycle, Human hair dermal papilla cells (HDPCs)

*Corresponding author : Mi Ryeo Kim, Department of Pharmacology, College of Korean Medicine Daegu Haany University, 165 Sang-dong, Suseong-gu Daegu 706-827, Korea,

· Tel : +82-53-770-2361 · Fax : +82-53-770-2361 · E-mail : mrkim@dhu.ac.kr

Wang Keun Yoo, Department of Health Science, Daegu Haany University, 1 Haany-daero, Gyeongsan, Gyeongbuk, Korea,

· Tel : +82-53-819-1411 · Fax : +82-53-819-1411 · E-mail : wkyoo@dhu.ac.kr

#First author : Mi-Ja Lee, Department of Public Health Graduate School, Daegu Hanny University, 1 Haany-daero, Gyeongsan, Gyeonbuk, Korea,

· Tel : +82-53-819-1411 · Fax : +82-53-819-1411 · E-mail : puppy3128@naver.com

· Received : 14 June 2021 · Revised : 01 July 2021 · Accepted : 25 July 2021

I. 서론

모발은 일차적으로 외부의 충격을 흡수를 하거나 추위, 태양광선 등의 외부 위험요인들로부터 보호하는 역할을 하며, 외모에 대한 인식 변화에 따라 장식의 기능도 극대화 되어가고 있다^{1,2)}. 따라서 탈모가 심할수록 분노, 자존심 저하와 같은 정신적 이상, 사회 참여도 결여, 우울증 또는 부적절한 대인관계 현상이 나타나며, 사회적 정신적인 고통까지 수반하므로 적절한 관리의 중요성이 대두되고 있다³⁾.

현대사회에서는 탈모로 인해 고통 받는 사람이 증가함에 따라, 탈모와 관련된 연구가 많이 진행되고 있으며⁴⁾, 불규칙하고 서구화된 식습관으로 인해 발생하는 영양불균형, 과도한 정신적 스트레스, 여성인구의 다이어트 및 사회적 활동 등으로 인해 탈모 여성의 비율이 증대되고 있는 추세로 탈모는 이제 중년남성에게 국한되는 게 아니라 젊은 층과 여성층에 까지 확대되고 있다⁵⁾. 따라서, 탈모가 더 이상 주요 질환에 동반되는 부수적인 증상이 아니라 독립된 질병으로 여겨진다.

탈모 치료제의 국내 시장은 2015년도 상반기 기준으로 1조 원에 육박하는 것으로 추정되며, 국민건강보험공단에 의하면 탈모증 중 특히, 원형탈모증으로 진료를 받은 환자가 2000년도 기준 13만 6천명에서 2020년도 기준 17만 3천명으로 27%가량 증가되었다고 보고하였다⁶⁾. 탈모 관련 헤어 케어 제품의 시장 규모 또한 2010년도 이후로 10% 성장하였으며, 중국, 유럽 및 미국 등 해외에서도 탈모 환자가 증가하고 있기 때문에 시장 규모 또한 꾸준히 증가할 것으로 예상되고 있다²⁾.

모발은 두피 기저부에 위치한 기질세포의 지속적인 증식으로 피부가 함입된 구조인 모낭에서 생성되며, 다양한 성장주기를 가진다⁷⁾. 모발은 모낭의 성장주기인 성장기(anagen), 퇴행기(catagen), 휴지기(telogen)를 반복하면서 생성되거나 탈락된다⁸⁾. 진피의 유두층에서 모낭이 활동하고 성장하여 모발이 자라나는 2-7년간의 성장기, 모유두세포가 퇴화되어 진피의 두께가 얇아지고 표피에 가까워져 성장을 멈추는 2-3주간의 퇴행기, 모낭의 활동이 정지되고 다시 성장기로 이어지는 3-4개월간의 휴지기로 구분되며 이러한 모발주기를 10-20회 반복하게 된다⁹⁾. 그러나 성장기가 짧아지고 휴지기가 길어지면 탈모가 발생한다^{10,11)}. 탈모는 여러 가지 원인으로 발생한다고 알려져 있으며, 일시적으로 발생하는 가역적 급성탈모와 지속적으로 발생하는 비가역적 만성탈모로 구분된다. 모발 성장주기상 모발이 하루 100개 이상으로 소실되는 경우, 일반적인 탈모로 의심한다. 모발 소실 정도는 개인차가 존재하나, 일반적으로는 장기간에 걸쳐 서서히 악화되며, 악화와 호전되는 상태가 교대로 발생하는 경향을 띤다. 탈모의 종류는 모발의 성장주기에 따라 나뉘며, 성장기형 탈모는 원형 탈모, 압박성 탈모, 두부백선으로 인한 탈모, 반홍성 탈모, 매독성 탈모 등이 있으며, 휴지기성 탈모는 내분비성 탈모, 약물성 탈모, 지루성 탈모 및 남성형 탈모 등이 있다. 만성 탈모증 중 여성과 남성 탈모 대부분의 증상은 원형탈모증과 남성형 탈모증으로 알려져 있다.

탈모 유형 중 하나인 남성형 탈모증(androgen alopecia)은 남성 호르몬인 dihydrotestosterone (DHT) 이 많이 발생하는

경우에 나타나며, 5 α -reductase에 의해 testosterone이 DHT로 전환되어 탈모를 유발할 수 있기 때문에 5 α -reductase가 과다할 경우 탈모증이 유발될 수 있다^{12,13)}. 남성형 탈모증 치료제로 사용되는 경구복용제인 finasteride는 5 α -reductase 발생을 억제하여 testosterone이 DHT로 전환되는 것을 막아 탈모증 치료제로 사용된다¹⁴⁾. 발모효과를 가지며 탈모의 진행을 지연시키지만, 장기간 복용해야 효과를 볼 수 있다. 그러나 장기간 복용 시 여성의 경우 기형아 출산, 남성의 경우 성기능 장애와 같은 부작용을 초래한다¹⁵⁾. FDA (Food and Drug Administration, USA)에서 공인을 받은 탈모 치료제는 finasteride와 minoxidil (MNXD)이 있는데, MNXD는 모발의 성장기(anagen phase)를 연장시켜 모발을 촉진시키며, vascular endothelial growth factor (VEGF)의 발현을 유도하여 혈관 확장을 통해 영양공급을 활성화 시킨다. 또한, 평활근세포, 혈관내피세포 활성화로 혈액순환을 개선화 시켜 모발 성장 세포들의 성장을 촉진시켜 발모를 완화시키는 것으로 알려져 있지만, 발모효과에 대한 작용기전은 명확히 규명되어 있지 않다¹⁶⁾. 또한 MNXD는 finasteride와 같은 효과를 유지하기 위해서는 장기간 사용이 요구되나, 장기간 복용할 경우 피부염증, 가려움증(pruritus), 표피 벗겨짐(scaling), 건성화(dryness) 및 홍반(erythema) 등과 같은 부작용을 초래될 수 있어 천연물의 연구가 활발히 진행되고 있다^{15,17,18)}.

저자 등은 이전 연구¹⁹⁾에서 지황음(地黃飮)이 모발 성장에 의미 있는 효과가 있다는 것을 보고한 바 있으며, 본 실험은 지황음 처방 구성 한약재의 모발 성장에 대한 효능 연구의 일환으로 진행되었다. 우슬(Achyranthis Radix (AR), China)은 비름과에 속하는 다년생 본초인 우슬과 마우슬 및 천우슬의 뿌리를 건조한 것으로 본 실험에서는 천우슬을 사용하였으며, 우슬의 성미는 평하며, 맛은 쓴맛과 신맛을 가지고, 신장과 간장의 경락에 작용하며, 혈액을 생성하는 효능과 인체의 상부로 오르는 열을 떨어트리는 효능이 있다²⁰⁾. 또한 동의보감에 모발 성장과 흑화에 도움을 준다고 알려져 있으나, 항아토피 및 항관절염 효과가 있다는 실험 연구들만 보고되어 있다²¹⁻²³⁾. 따라서 본 연구에서는 이를 근거로 우슬 추출물이 모유두세포의 성장에 미치는 영향을 알아보려고 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시료의 제조

본 실험에서 사용된 우슬(천우슬)은 대원약업사(Deagu, Korea)에서 구입하여 사용하였으며, 총량의 10배의 50% EtOH로 100°C에서 COSMOS-660 (Kyuongseo E&P, Incheon, Korea)를 사용하여 10시간 추출하였다. 추출물을 여과하여 Rotary evaporator (N-1110V, Evela, Japan)을 사용하여 농축하였으며 Large capacity refrigerated centrifuge (Continent R, Hanil, Korea)를 사용하여 20분간 7,000 rpm

으로 원심분리하였다. 이후 추출물을 2차 여과한 뒤, Freeze Dryer (PVTFD10R, 일신랩, Seoul, Korea)를 사용하여 동결 건조하여 분말(수율 60.34%)을 얻었다. 시료는 냉동보관하였으며, 실험 시 distilled water (DW)에 녹여 사용하였다.

2. 방법

1) 세포배양

본 실험에서 사용된 모유두세포(Human hair dermal papilla cells (HDPCs)는 CEFO (Cell Enginnering For Origin, Seoul, Korea)에서 분양 받았으며, 1% penicillin (Hyclone, Logan, Utah, USA)와 10% fetal bovine serum (FBS, Hyclone, Victoria, Australia)을 첨가한 DMEM low glucose (Hyclone, Logan, Utah, USA) 배지로 배양하였다. 37°C에서 5% CO₂인 조건으로 세포가 80-85% confluence 되었을 때 계대배양 하였으며, 계대배양 시 trypsin-EDTA (Gibco, Burlington, Canada)를 처리한 뒤 37°C에서 배양하였다. 이후 DMEM low glucose를 가하여 cell을 수집한 뒤 25°C에서 5분간 1,300 rpm으로 원심분리하여 세포를 얻었다. Microscope 을 사용하여 세포를 확인하였으며 2일 마다 배지를 갈아주었다.

2) 세포 생존율 분석

MTT assay를 통해 성장률을 분석하였으며, HDPCs을 96 well plate에 4-5×10⁴ cell/well이 되게 200 μl씩 분주 하여 5% CO₂에서 37°C인 조건으로 48시간 적응 시킨 뒤 시료를 농도별로 처리하여 48시간 동안 배양시켰다. 그 후 MTT 시약 (Sigma, st. Louis, MO, USA) 1 mg/ml을 100 μl 씩 분주하여 4시간 동안 반응 시킨 뒤 시약을 제거하고 dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma, st. Louis, MO, USA) 200 μl을 가하여 칩 전물과 혼합시켜 ELISA plate reader (Thermo Fisher Scientific Inc, USA)를 이용하여 흡광도 570 nm로 OD값을 측정하였다.

3) Cell cycle 분석

DMEM low glucose에 10% FBS와 1% penicillin을 첨가한 배지를 배양액으로 HDPCs을 5% CO₂에서 37°C인 조건으로 배양하였다. 이 후 HDPCs가 80-85% cell confluence 되었을 때 60 mm dish에 계대배양하여 48시간 동안 적응 시켰다. 적응시킨 뒤 시료를 농도별로 처리하여 48시간 동안 배양시켰다. 48시간 뒤 2회 DPBS로 washing한 후 trypsin 1 ml을 분주 하여 cell scraper로 긁어 낸 뒤 cell을 1회 더 washing 하였다. Washing 후 70% methaol 1 ml을 넣고 24시간 이상 -20°C에서 fixing한 후, PI로 염색하여 flow cytometry로 cell cycle을 측정하였다.

4) 단백질 발현 측정

IGF-1, p-Akt, Akt, p-Erk, Erk 및 Wnt3a 의 단백질 발현을 측정하기 위해, HDPCs를 60 mm dish에 2.5×10⁶

cells/well이 되게 분주하여 48시간 동안 배양시켰다. 48시간 후 시료를 농도별로 처리하여 48시간 배양시킨 후, 상등액을 제거하고 DPBS로 2회 washing하였다. 그 후 lysis buffer (pH 7.8, 50 mM Tris, 120 mM NaCl, 2 mM ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA), 1% triton X-100) 300 μl을 가하여 세포를 거뒀으며, 4°C에서 13,000 rpm으로 30분간 원심분리하여 상등액을 채취하였다. 상등액은 bradford assay를 이용하여 단백질을 정량하였으며, 12% SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis gel로 전기영동하여 단백질을 크기별로 분리시켰다. 전기적 방법을 이용하여 polyvinylidene fluoride (PVDF) microporous membrane (Millipore, Darmstadt, Germany)으로 분리된 단백질을 옮겨 PVDF microporous membrane을 5% bovine serum albumin (BSA, Bovogen, Australia) 용액에 담귀 상온에서 1시간 동안 blocking 시켰으며, blocking 후 1× PBST로 10분간 3회 세척하였다. 세척이 끝난 PVDF microporous membrane에 IGF-1 (Novus biologicals; no.NBP2-16929, Colorado, USA), Akt (Cell signaling technology, Inc.; no.#2938, Massachusetts, USA), p-Akt (Cell signaling technology, Inc.; no. #4060, Massachusetts, USA), Erk (Cell signaling technology, Inc.; no.#9102, Massachusetts, USA), p-Erk (Cell signaling technology, Inc.; no.#4376, Massachusetts, USA) 및 Wnt3a (R&D systems, Inc.; no.MAB13242, Minnesota, USA) 1차 antibody를 각각 희석하여 분주한 뒤, 12시간 4°C에서 반응 시켰다. 반응 종료 후, 1× PBST로 10분간 3회 세척한 뒤 2차 antibody 희석하여 상온에서 1시간 반응 시켰다. 반응이 끝난 뒤 1× PBST로 10분간 3회 세척하여 적정량의 ECL substrate (GE healthcare, Buchinghamshire, UK)으로 형광 발생하여 Image 분석기 (Sensi Q 2000, Lugen Sci, Bucheon, Gyeonggi-do, Korea)로 각 factor의 발현 정도를 분석하였다.

5) 통계분석

본 연구의 실험결과는 SPSS statistics 25 (SPSS Inc., USA)를 이용하여 분석하였으며, 각 군 간의 평균차이에 대한 유의성 검정은 one-way-ANOVA를 실시하였다. 모든 결과는 mean±S.E.로 표시하였으며 분석결과에 대한 p<0.05 수준에서 least-significant differences test (LSD)을 통하여 유의성을 나타내었다.

Ⅲ. 결 과

1. 세포 생존율 측정

우슬을 0.001, 0.005, 0.01, 0.5 및 0.1 mg/ml의 농도로 처리하였을 때, 대조군에 비하여 각각 147.49 ± 2.11, 122.08 ± 0.5, 129.2 ± 11.31, 125.68 ± 2.62 및 106.33 ±

0.13%의 세포 생존율을 보였다. 우슬 추출물 처리군은 모든 농도에서 세포 생존율 100% 이상을 보여 독성이 나타나지 않았으며, 0.005, 0.01 및 0.05 mg/ml의 처리 농도에서 대조군에 비해 세포 생존율이 유의적으로 증가하였다 (Fig. 1).

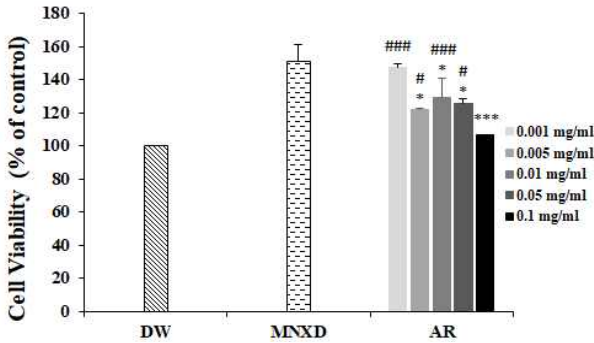


Fig. 1. Effect of AR on cell viability in HDPCs
Data are mean \pm S.E. Significant differences between DW VS AR are indicated; #p<0.05, ##p<0.001, ###p<0.0000. (n=3) Also, MNXD VS AR are indicated; *p<0.05, **p<0.001, ***p<0.0000. (n=3) DW; Distilled water, MNXD; 10 μ M Minoxidil, AR; AR 50% ethanol extract-treated group.

2. Cell cycle 분석

우슬 추출물을 처리한 후 cell cytometry를 통해 cell cycle을 분석한 결과, S phase에서 양성대조군 10 μ M MNXD군이 11.57%로 측정되었다. 또한, 우슬 추출물을 0.025, 0.05 및 0.1 mg/ml로 처리하였을 때 각각 7.13, 14.2 및 15.15%로 측정되어 우슬 처리군과 양성대조군은 대조군(5.43%)에 비해 증가한 것을 확인하였다. 따라서, 우슬의 고농도군이 양성대조군에 비해 DNA를 합성하는 주기인 S phase를 증가시킨다는 것을 알 수 있었다. G2 phase는 분열 준비기, M phase는 핵분열 및 세포질 분열이 일어나는 시기로서, G2/M기에서 농도별 우슬 처리군은 각각 4.26, 6.59 및 6.13%로 측정되었으며 대조군은 3.06%, 양성대조군은 5.67%로 측정되었다. 이 결과로 보아, 우슬 처리군은 대조군에 비해 S 및 G2/M phase를 증가시켰음을 알 수 있었다. 특히, 양성대조군에 비해 우슬의 고농도군에서 G2/M phase를 증가시키는 것으로 나타났다 (Fig. 2).

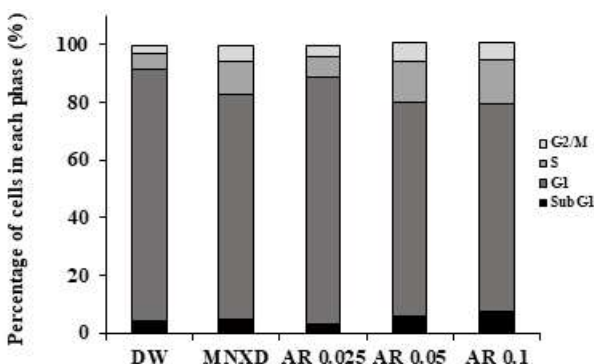


Fig. 2. Effect of AR on cell cycle progression in HDPCs
DW; Distilled water, MNXD; 10 μ M Minoxidil, AR; AR 50% ethanol extract-treated group.

3. 단백질 발현 측정

우슬 추출물을 0.025, 0.05 및 0.1 mg/ml의 농도로 처리한 후 모발 성장을 유도하는 인자로 알려져 있는 IGF-1 단백질 발현 정도를 측정된 결과, 고농도군에서 양성대조군인 MNXD에 비해 유의적으로 증가하였다. 또한, MAPK 중 하나인 Akt 및 extracellular signal-related kinase (Erk)의 활성화는 세포 증식에 깊이 관여하는 것으로 알려져 있다. 우슬 추출물을 0.025, 0.05 및 0.1 mg/ml 농도 별로 처리하여 p-Akt/Akt 및 p-Erk/Erk의 단백질 발현 정도를 측정하였다. p-Akt/Akt는 우슬 처리군에서 처리 농도별로 각각 1.09 ± 0.13 , 1.18 ± 0.06 및 1.19 ± 0.16 로 나타났으며, 0.73 ± 0.07 인 대조군에 비해 유의하게 증가하였다. 또한, p-Erk/Erk의 단백질 발현에서 우슬 처리군은 양성대조군의 1.27 ± 0.16 값과 비교하여 각각 1.14 ± 0.25 , 1.21 ± 0.30 및 1.49 ± 0.13 로 유의적인 차이가 나타나지 않았으며, 대조군의 0.64 ± 0.09 값에 비해서 유의적으로 증가하였다.

모발 성장, 모발 재생, 모낭 줄기세포의 활성화 및 hair germ cell의 증식 등의 과정에 중요한 역할을 한다고 알려진 Wnt3a의 단백질 발현을 측정된 결과, 우슬을 처리한 모든 농도군에서 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다.

IV. 고찰

반복적인 퍼머와 염색, 스트레스, 다이어트 등으로 인하여 탈모환자는 증가하고 있는 추세이며, 현재 탈모는 남성뿐만 아니라 여성들에게도 심각한 스트레스 요인으로 작용하고 있다²⁴. 탈모를 예방하고 발모를 촉진시키기 위해 현재 많은 약들이 개발되어 있으며 그 중 MNXD와 finasteride가 가장 많이 사용되고 있다. MNXD는 칼륨 채널을 열리게 하는 역할을 하여 고혈압 치료제로 개발되었으나, MNXD를 사용하는 고혈압 환자들의 전신에서 발모현상이 촉진된다는 것이 관찰되었다. 또한 많은 연구를 통해 MNXD는 모낭세포의 성장을 자극하고 모발 주기를 성장기로 전환하는 역할을 하며, dermal papilla cell에서 세포 증식과 항세포사멸효과를 가지는 등 발모제의 효과가 입증되었다^{16,25}. 한편, sulfotransferase에 의해 항산화된 대사체인 MNXD sulfate는 혈관평활근에 영향을 주어 모낭 상피세포의 분화와 성장을 촉진시킨다고 알려져 있다. 또 다른 탈모치료제인 finasteride는 양성전립선 비대증 치료제로 개발되었으나, 5α -reductase의 억제제로 DHT로 변환되는 것을 방해하여 탈모 진행의 지연과 모발의 재형성에 기여한다는 것이 입증되었다²⁶. 그러나 시판되고 있는 MNXD와 finasteride는 장기간 사용할 시 피부 질환 및 혈액적 부작용의 우려와 매일 2회씩 지속적으로 도포하여야 한다는 단점이 있다^{27,28}. 이에 최근에는 부작용이 적은 천연소재를 이용한 모발 제품이 개발되고 있으며, 당약, 감국, 산초, 석창포 및 하수오 등 특히 천연소재들의 효능이 알려져 있다²⁹. 본 실험에서 사용한 우슬은

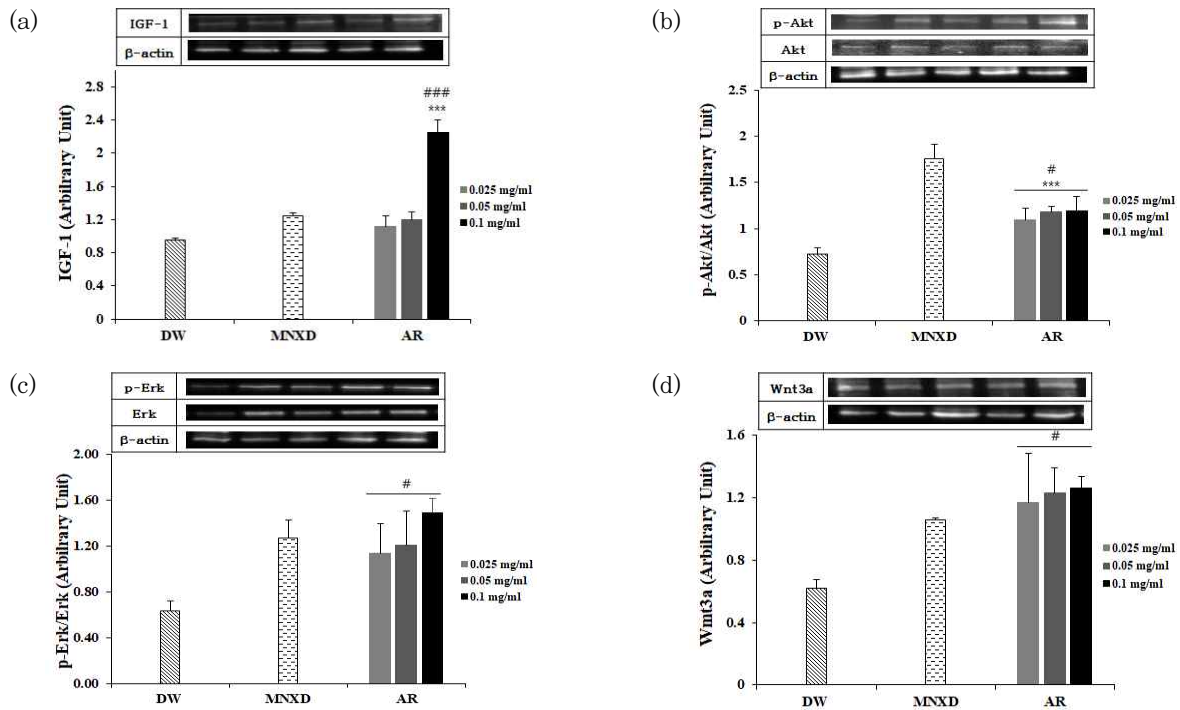


Fig. 3. Effect of AR on protein expressions in HDPCs
 Data are mean±S.E. Significant differences between DW VS AR are indicated ; #p<0.05, ##p<0.001, ###p<0.0000 (n=3). Also, MNXD VS AR are indicated ; *p<0.05, **p<0.001, ***p<0.0000 (n=3). DW ; Distilled water, MNXD ; 10 μM Minoxidil, AR ; AR 50% ethanol extract-treated group.

혈액을 생성하고 혈액순환을 촉진하는 효능이 있어 머리가 희게 되는 것을 방지하고 발모를 치료하며, 항아토피 효과가 있다고 알려져 있다²³⁾.

모유두 세포는 분비성 cytokine에 의해 주위 상피계 세포의 분열을 조절한다고 알려져 있으며, 모발 성장과 관련된 여러 인자들의 작용기전 연구에 많이 사용되어지고 있다³⁰⁾.

세포 성장 주기는 세포의 자기복제 과정이며, 세포성장, 염색체 복제, 세포분열 등으로 반복된다. G1 phase는 세포가 분열된 후 다음 성장 주기를 시작하기 전 필요한 인자를 준비하는 기간이며, S phase는 DNA의 복제가 이루어지는 시기로 한 염색체에서 두 염색체가 되는 시기이다. G2 phase는 한 세포에서 두 세포로 분열하는데 필요한 인자들이 생산되는 시기이며, M phase는 세포질 분열이 일어나 세포벽이 생기며 한 세포에서 두 세포로 나뉘는 시기이다³¹⁾. 본 연구에서 우슬 추출물을 처리하여 세포 주기를 분석한 결과, S phase 및 G2/M phase가 대조군에 비해 추출물 모든 농도가 증가하였으며, 양성대조군에 비해 고농도군이 유의하게 증가하였다 (Fig. 2). 이는, 양성대조군에 비해 우슬 추출물 고농도군에서 DNA 복제와 염색체의 분열을 증가시키며, 모든 처리 농도군에서 세포 분열시 필요한 인자의 증가와 세포질 분열을 증가시키는 것으로 사료된다.

다양한 성장인자들이 모발의 성장주기에 작용하여 탈모나 양모를 유발한다. 대표적으로 insulin-like growth factor 1 (IGF-1), vascular endothelial growth factor (VEGF)는 모발 성장을 유도하는 인자로, transforming growth factor β1 (TGF-β1)은 모발을 억제하는 인자로 알려져 있으며 이

외에도 fibroblast growth factor (FGF)와 keratinocyte growth factor (KGF) 등이 있다^{10,32)}. 그 중 IGF-1은 모유두 세포로부터 분비되어 상피계 세포의 증식을 촉진하며, 모낭 조직의 길이를 현저하게 증가시킴으로 모발성장을 조절하는 중요한 성장인자 중 하나이다³²⁾. 최근에는 모낭세포의 성장주기에서 세포이동과 분화에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 생물학적 역할을 위해 IGF-1은 세포 표면에 특정 receptor와 결합하여 활성상태가 되어야 하며, type-1 IGF receptor (IGF-1R)은 IGF 매개 신호 전달과정에서 존재하는 유일한 receptor이다. 이러한 성장인자는 신체의 성장과정에 필요한 성장호르몬(GH, growth hormone)의 내분비학적 역할을 매개하며, 특정결합단백질(BPs; specific binding proteins)과 결합하게 된다. 세포 표면의 receptor와 관련 있는 BPs는 혈관의 구성요소에서 유래되며 TGF의 전달과정을 조절한다. 조직 내에서 IGF-1은 mesenchymal type cell에서 생성되며, IGF-1R과 결합함으로써 자가분비(autocrine)와 측분비(paracrine) 기능을 나타낸다. 이 결합은 receptor tyrosine kinase (RTK)를 활성화 시키며, 연쇄반응들을 촉발시켜 세포 분화를 촉진시킨다³³⁾. 세포 증식을 조절한다고 알려진 cell cycle 단백질 중 하나인 cyclin D1은 Wnt/β-catenin 신호전달 경로의 target gene 중 하나이며, Wnt/β-catenin 신호전달 경로는 glycogen synthase kinase-3β (GSK3β), protein kinase A (PKA) 및 Akt 등의 작용에 의해 활성화되어 모발성장, stem cell 조절 및 세포증식 등의 과정에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다³⁴⁾. 이에 탈모와 양모와 관련된 성장인자들의 단백질 발현도를 측정된 결과, IGF-1의 경우 우슬 0.1 mg/ml

처리군에서는 양성대조군의 1.24 ± 0.03 에 비해 2.25 ± 0.15 로 유의적으로 증가하였다 (Fig.3a). p-Akt 및 Akt와 같은 성장 인자들의 단백질 발현도는 대조군의 0.73 ± 0.07 에 비해 우슬 처리 농도별로 각각 1.09 ± 0.13 , 1.18 ± 0.06 및 1.19 ± 0.16 으로 유의적으로 증가한 것을 확인하였다 (Fig.3b). p-Erk/Erk와 Wnt3a 단백질 발현도는 대조군에 비해 우슬 추출물 처리군이 유의적으로 증가하였으며 양성대조군과 유사한 수치를 나타내었다(Fig.3c,3d). 참도박과 같은 소재인 한 연구들에서도 Erk, Akt 인산화 및 Wnt3a 신호전달 경로의 활성화에 의한 세포 증식 촉진효과를 통해 모낭의 성장기를 유도하거나 성장기를 유지시킨다는 사실을 보고한 바 있다^{35,36}. 따라서, 우슬 추출물은 상피계 세포의 증식을 촉진하며 모낭 조직의 길이를 증가시킬 수 있을 것으로 생각되며, 모발성장, stem cell의 조절 및 세포 증식 등의 과정에 중요한 역할을 함으로써 탈모 치료 및 예방에 도움이 되는 천연소재로 활용될 수 있음을 시사하는 바이다.

V. 결 론

본 연구에서는 우슬의 에탄올 추출물이 모발 성장에 미치는 영향을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 모유두 세포에서 cell cycle을 측정된 결과, S 및 G2/M phase가 대조군에 비해 모든 우슬 에탄올 추출물 처리군에서 유의하게 증가하였으며, 고농도군에서는 양성대조군에 비해 유의하게 증가하였다.
2. 모유두세포에서 IGF-1 단백질 발현을 측정된 결과, 우슬 에탄올 추출물의 고농도 처리군이 양성대조군에 비해 유의하게 증가시켰다.
3. 모유두세포에서 p-Erk, Erk 및 Wnt3a의 단백질 발현을 측정된 결과, 우슬 에탄올 추출물 처리군이 대조군에 비해 유의하게 증가하였으며, 양성대조군과 비슷한 증가를 나타내었다.

위 결과로 보아 우슬 추출물은 탈모의 치료 및 예방에 도움이 되는 천연소재로써 부작용이 적고 안전성 있는 모발 관련 화장품이나 의약품의 소재로 활용될 수 있을 것으로 사료되는 바이다.

References

1. Kim MH, Kim YC. The promoting effect of rosemary oil on hair growth by gross and histological observation in C57BL/6 Mice. *J Cosmetological Sci*, 2010 ; 6(2) : 121-9.
2. Kim JY, Kim YJ, Kim MJ, Kim MR. Ethanol extract of medicinal herbal mixture accelerates hair growth and melanogenesis in vivo and in vitro. *Kor J Herbol*, 2018 ; 33(5) : 9-18.
3. Kim HJ, Sim WY, Song JY. Assessment of the characteristics of illness behavior and quality of life in patients with androgenetic alopecia. *Korean J Derm*, 2001; 39(10) : 1094-9.
4. Lee JH. Effect of cynachi wilfordii radix, lycofructus, Hovenia dulcis extracts on hair growth in C57BL/6 mice. Kyung Hee University Master's degree, 2014.
5. Kim JY, Kim MR. Ethanol extract of Sinsun-yukza-hwan, a Korean medicinal prescription, promotes hair growth in C57BL/6 mice, an alopecia animal model. *Kor J Herbol* 2018 ; 33(3) : 1-9
6. Korean Statistical Information Service [serial online] 2019-2019 [cited 2021 Feb 15]. Available from : URL : https://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=350&tblId=DT_35001_A075111&vw_cd=MT_OTITLE&list_id=350_35001_6&scrId=&seqNo=&lang_mode=ko&obj_var_id=&itm_id=&conn_path=K2&path=%252Fcommon%252Fmeta_onedepth.jsp
7. Kim NH. A study of hair growth by herbal medicine included Artemisia argyi Leu, in C57BL/6 mice. Daegu Haany University Master's degree, 2015 : 4-6.
8. Botchkarev VA, Kishimoto J. Molecular control of epithelial mesenchymal interactions during hair follicle cycling. *J Invest Derm Symp Proc*. 2003 ; 8(1) : 46-55.
9. Lee CH, Lee JY, Shin HJ, Ha KT, Seo HS, Jeong HS. Hair-growth promoting effect of microneedle roller therapy. *J Physiol & Pathol Korean Med*. 2014 ; 28(1) : 16-21.
10. Cotsarelis G, Millar SE. Towards a molecular understanding of hair loss and its treatment. *Trends Mol, Med*, 2001 ; 7(7) : 293-301.
11. Seven MR, Kerstin F, Ralf P, Bori H, Carina VDV, Stefan SE, Ian AM, Kurt SS. A comprehensive guide for the accurate classification of murine hair follicles in distinct hair cycle stages. *J Invest Derm*, 2001 ; 117(1) : 3-15.
12. Park JS, Yeom MH, Park WS, Joo KM, Rho HS, Kim DH, Chang IS. Enzymatic hydrolysis of green tea seed extract and its activity on 5 α -reductase inhibition. *Bio sci Bio technol Bio chem*. 2006 ; 70(2) : 387-94.
13. Liu J, Kurashiki K, Shimizu K, Kondo R. 5 α -reductase inhibitor effect of triterpenoids isolated from ganoderma lucidum. *Biol Pharm Bull*. 2006 ; 29(2) : 392-5.
14. Chaudhary UB, Turner JS. Finasteride. *Expert Opin, Drug Metab Toxicol*. 2010 ; 6(7) : 873-81.

15. Kim NH, Moon SH, Kim MR, Lee YS, Yoo WK. Haeae-tang including artemisia argyi folium promotes hair growth in hair-removed C57BL/6 Mice. *Kor J Herbol*. 2015 ; 30(2) : 19-24.
16. Trueb RM. Mini-Review Molecular mechanisms of androgenetic alopecia. *Exp Gerontol*. 2002 ; 37 : 981-90.
17. Dow S, Kurt S, Haber R, Parsley WM, Vogel JE, Whiting DA, Washenik K. Psychological effect, pathophysiology, and management of androgenetic alopecia in men. *Mayo Clinic Proceedings*. 2005 ; 80(10) : 1316-22.
18. Hageman T, Schlutter-Bhmer 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.
19. Kim YJ. Effect of herbal mixture (JHU) on hair growth and gray hair in vitro and in vivo. Daegu Haany University Master's Degree, 2018.
20. Kim CS, Pakr YK. The therapeutic effect of *Achyranthis Radix* on the collagen-induced arthritis in mice. *Kor J Herbol*. 2010 ; 25(4) : 129-35.
21. Kim KO, Ku CS, Kim MJ, Park YJ, Ryu HW, Song HH, Kim JH, Oh SR. Phytoecdysones from the roots of *achyranthes japonica nakai* and their anti-atopy activity. *J Appl Biol Chem*. 2015 ; 58(1) : 13-9.
22. Kim GY, Seong RS, Kim YE, Chang MK, Yoo YD, Choi KB, Jeong HW. Effects of *achyranthes radix* and electroacupuncture on type II collagen-Induced arthritis. *J Physiol & Pathol Korean Med*. 2007 ; 21(2) : 425-31.
23. Kim CS, Park YK. The therapeutic effect of *Achyranthis Radix* on the collagen-induced arthritis in mice. *Kor J Herbol*. 2010 ; 25(4) : 129-35.
24. Yoon BY, Park HS. A study on the factors related scalp care service utilization of women. *J Korean Soc Cosmetology*. 2010 ; 16 : 1-14.
25. 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 Derm Sci*. 2004 ; 34(2) : 91-8.
26. Kang JI, Kim JE, Kim SC, Han SC, Lee JH, Lee JH, Noh EJ, Jeon YJ, Yoo ES, Kang HK. The effect of glucopyranosyldiacylglycerol from *Padina arborescens* on the prevention of hair-loss. *Kor J Pharmacogn*. 2020 ; 51(1) : 41-8
27. Han MR, Kim EY, Jung YH, Kim MS, Park JH. Characteristics and hair growth efficacy of water dissolving micro-needles containing minoxidil regarding length of micro-needles. *Polymer*. 2013 ; 37(3) : 393-8.
28. Shin HS, Park SY, Lee WC, Shin JH, Yi TH. Effect of *Selenarctos thibetanus*(bear oil) on hair growth promotion in C57BL/6 mice. *J Invest Cosmetol*. 2011 ; 7(3) : 243-8.
29. Kang SI, Lee JO. Research on patent trends of hair loss prevention and hair regrowth. *J beauty art society*. 2009 ; 3(2) : 127-32.
30. Randall VA, Hibberts NA, Thornton MJ, Merrick AE, Hamada K, Kato S, Jenner TJ, Oliveira ID, Messenger AG. Do androgens influence hair growth by altering the paracrine factors secreted by dermal papilla cells?. *Eur J Derm*. 2001 ; 11(4) : 315-20.
31. You SH, Choi HI, Kim HA, Kim YS, Shin HS, You HK. Effects of cervi parvum cornu on the cell cycle regulation in human peripindental ligament cells. *J Physiol & Pathol Korean Med*. 2003 ; 17(1) : 157-64.
32. Kim MJ, Park KH, Lee IC, Kim BH. Antioxidant ability and hair growth effect of samhwang-sasintang in C57BL/6 model. *J Physiol & Pathol Korean Med*. 2014 ; 28(2) : 154-61.
33. Baek MJ. Signal transduction pathways in colorectal cancer carcinogenesis and metastasis. *J Korean Soc Coloproctol*. 2005 ; 21(6) : 433-44.
34. Kang JI, Moon JS, Kim EJ, Lee YK, Koh YS, Yoo ES, Kang HK, Yim DS. The hair growth effects of wheat bran. *Kor J Pharmacogn*. 2013 ; 44(4) : 384-90.
35. Kang JI, Kim SC, Jeon YJ, Koh YS, Yoo ES, Kang HK. Hair-growth promoting effect of *Grateloupia elliptica* via the activation of Wnt Pathway. *Kor J Pharmacogn*. 2016 ; 47(2) : 143-9.
36. Park SA, Ko KS, In MH, Mun YJ, Woo WH. Effect of *Puerariae Radix* ethanol extract on the proliferation of human dermal papilla cells. *J Physiol & Pathol Korean Med*. 2017 ; 31(3) : 167-72.