

生髮飲 피부도포가 C57BL/6 마우스의 육모 촉진에 미치는 영향

이상학 · 정석희 · 송미연 · 신현대

경희대학교 한의과대학 한방재활의학과교실

Hair Growth Promoting Effect of *Saengbal-eum*(*Shēngfà-yǐn*) Application on Hair-Removed C57BL/6 Mouse

Sang-Hak Lee, O.M.D., Seok-Hee Chung, O.M.D., Mi-Yeon Song, O.M.D., Hyun-Dae Shin, O.M.D.
Dept. of Oriental Rehabilitation Medicine, College of Oriental Medicine, Kyung-Hee University

Objectives :

Saengbal-eum(*Shēngfà-yǐn*) is a hair care product which is composed of eight plant extracts used in oriental medicine. This study was carried out to investigate effect of *Saengbal-eum*(*Shēngfà-yǐn*) on hair regrowth in a shaving model of C57BL6 mice.

Materials and Methods :

Five-week-old mice were acclimated for 1 week under 21~23°C, 40~60% relative humidity, and 12h of a light/dark cycle before beginning experiment. There were four experimental groups including normal saline(control), a positive control of 3% Minoxidil(MXD), and 30%, 100% *Saengbal-eum*(*Shēngfà-yǐn*) extracts(sample-I, II) for 12 female mice. The test compounds were topically treated once a day for 14 days. The hair regrowth was photographically and histologically determined during the experimental period of 14 days. Revelation of TGF- β 1 and EGF were also determined using a immunohistochemistry.

Results :

The topical application of 3% MXD and *Saengbal-eum*(*Shēngfà-yǐn*) in female mice promoted hair regrowth earlier and faster than the control groups. Concentrations of hairs and thick-hair ratio in 3% MXD and *Saengbal-eum*(*Shēngfà-yǐn*) groups were promoted than control group. There was not significant difference of hair regrowth, concentration of hair, and thick-hair ratio between 3% MXD and *Saengbal-eum*(*Shēngfà-yǐn*) groups. TGF- β 1 was not revealed in control, 3% MXD and *Saengbal-eum*(*Shēngfà-yǐn*) groups. EGF was strongly positive in out root sheath of some thick hair of 30%, 100% *Saengbal-eum*(*Shēngfà-yǐn*) group, but negative in control and 3% MXD group.

Conclusions :

These results suggest that *Saengbal-eum*(*Shēngfà-yǐn*) has hair growth promoting activity and it can be for treatment for alopecia. And these effects relate to EGF revelation of hair roots.

Key words : Alopecia, C57BL/6 mice, *Saengbal-eum*(*Shēngfà-yǐn*), Minoxidil, Hair regrowth

- 접수 : 2007년 03월 13일, 수정 : 2007년 04월 09일, 채택 : 2007년 04월 14일
- 교신저자 : 이상학, 경기도 고양시 일산구 마두동 실촌상가 301호 동준한의원
Tel : (031) 907-7575, Fax : (031) 903-8303, E-mail : ac2417@hanmail.net

I. 서론

국민 경제의 향상과 함께 외모에 대한 관심이 높아지면서 탈모는 주요 질환에 동반되는 부수적인 증상으로만 여겨지기 보다는 독립된 질병의 하나로 인식되고 있다¹⁾. 또한 현대 사회의 과도한 업무와 스트레스, 불규칙한 생활 습관 등과 관련되어 탈모의 유병률이 증가하고 있어 최근에는 기존의 중년 남성 뿐 아니라 젊은 층과 여성층에서도 탈모예방과 양모 등에 대한 관심이 증가하고 있다²⁾.

탈모의 원인으로는 유전적 요인과 남성 호르몬(androgen)의 과다, 정신적 스트레스, 혈액순환장애, 기타 영양장애, 내분비 장애, 노화, 자가면역질환, 환경오염, 염색 등 여러 가지가 알려져 있고, 최근에는 모발 성장주기에 관련된 성장인자들이 탈모에 관여한다고 보고되고 있다³⁻⁵⁾. 혈관 내피 성장 인자(Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF)와 관련해서 Minoxidil(MXD)이⁶⁾, androgen 과다로 인한 탈모는 항 androgen 제제인 finasteride, cyproterone acetate, spironolactone 등이 연구 되고 있는 실정이다^{7,9)}. 그러나 아직까지 명확한 원인이 밝혀지지 않았으며 이로 인해 만족할만한 치료방법도 제시되지 않고 있다¹⁰⁾.

한의학에서는 탈모증의 原因으로 血熱¹¹⁾, 氣血衰弱^{12,13)}, 腎虛^{14,15)}, 肺虛¹⁶⁾, 七情¹⁷⁾ 등을 제시하고 있으며, 그 治療에 있어서는 辨證施治를 통한 내과적인 韓藥物 治療와 體鍼療法, 藥針療法, 光學療法 등 外治法을 병행하고 있으나 아직까지 인정받는 치료법은 나와 있지 않다¹⁸⁾. 한의학은 인체 正氣를 배양하여 자연치유력을 높이는 것을 목적으로 하는 특징이 있어 전통적으로 한의학적인 방법을 통한 탈모증의 치료가 선호되어 왔고, 현재 각계에서 탈모증을 완전하게 치료할 수 있는 발모제의 개발을 위한 연구가 다양하게 진행되고 있다. 한의학계에서도 한의학적 이론에 입각하여 각종 천연 한약제와 한방요법들의 발모효과에 대해 활발히 연구하고 있어 최근에는

苦參이 모유두세포에서 IGF-1과 KGF와 같은 성장 인자를 촉발시키고 type II 5- α reductase의 활성을 강력히 억제하는 효과가 있어 탈모에 대한 강한 치료 효과가 있다고 보고되었¹⁹⁾, 茶葉의 epigallocatechin-3-gallate(EGCG)가 모유두세포의 증식과 세포자멸(Apotosis)을 억제한다는 보고도 있으며²⁰⁾, 紅花, 當歸의 혼합물이 모낭세포증식을 촉진시킨다는 보고도 있고²¹⁾, 熟地黃, 丹蔘, 益母草, 玄蔘, 黃芪, 黨蔘, 麥門冬, 豬苓, 金錢草, 白花蛇舌草 복합방이 C57BL/6 mice의 모낭 VEGF 발현을 촉진한다는 보고 등²²⁾, 일부 한약제들의 유의한 발모 및 육모효과가 보고되고 있다.

본 연구에서는 탈모에 대한 새로운 한의학적 치료 방법 개발의 일환으로 기존의 연구들과 한의학 문헌을 토대로 선별한 발모 및 육모 촉진에 사용할 수 있는 8가지 약재들로 처방을 구성하여 生髮飲으로 명명하였으며, 이 처방의 육모 촉진효과를 C57BL/6 마우스를 대상으로 하여 평가 분석하였다.

II. 본론

1. 실험동물

생후 5주된 암컷 C57BL/6 마우스(샘타코, Korea) 48마리를 1주간 동물 사육실 환경에 적응 시킨 후에 실험에 사용하였다. 실험동물은 온도(21~23℃), 습도(40~60%), 조명(12시간 명/암)이 자동적으로 유지되는 사육실에서 무균음수와 사료(삼양사, Korea)를 자유롭게 공급받았으며, 실험실 환경에 1주 이상 적응 시킨 후 사용하였다.

2. 피부도포 한약물의 제조

生髮飲의 8종 한약재를 Table I의 비율로 하여 총 600g을 3,000ml의 증류수로 전탕하고, 전탕액을

Table 1. Herbs that Constitute *Saengbal-eum*(*Shēngfà-yīn*) and Those Ratio

Constitute Herbs	Scientific Name	Ratio	Weight(g)
艾 葉	<i>Artemisiae Argi Folium</i>	43	430
當 歸	<i>Angelicae Gigantis Radix</i>	11	110
側柏葉	<i>Biotae Cacumen</i>	1	10
苦 麥	<i>Sophorae Radix</i>	1	10
白 芷	<i>Angelicae Dahuricae Radix</i>	1	10
升 麻	<i>Cimicifugae Rhizoma</i>	1	10
蒼 朮	<i>Atractylodis Rhizoma</i>	1	10
石榴皮	<i>Granati Pericarpium</i>	1	10
Total			600

rotary evaporator로 감압 농축한 후 동결 건조하여 107.5g의 분말 건조된 엑기스를 얻었다. 이 엑기스를 생리식염수에 녹여 엑기스용액의 농도가 디지털당도계(PR-201, ATAGO, Japan)로 7.0 Brix가 되도록 만들어 기준용액으로 사용하였다. 이 기준용액의 100% 용액과 30% 용액을 각각 피부도포 한약물로 사용하였다(Table 1).

3. 실험군의 구분

生髮飲의 피부도포에 따른 육모 촉진효능을 관찰하기 위해 제모된 C57BL/6 마우스에 생리식염수를 피부도포한 대조군 (Control), 3% MXD(현대약품, Korea)를 피부도포한 양성대조군(MXD)과 실험군으로서 生髮飲 30% 용액을 피부도포한 sample-I군 및 100% 용액을 피부도포한 sample-II군으로 나누어 실험한 후 각 군을 비교하였으며, 각 군은 12마리씩으로 하였다.

4. 제모 및 시료의 도포

육모 촉진효과를 관찰하기 위해 C57BL/6 마우스의 6주령에 배부의 검정색 털을 1차적으로 면도한 다음 니크린 제모약(일동제약, Korea)을 피부도포하여 배부의 털을 완전히 제거하였다. 제모한 다음날부터 매일

오전 10시에 1회씩 2주간 각각의 시료를 충분히 피부도포 하였다.

5. 육모상태의 육안적 관찰 및 면적비율 측정

실험 시작 후 1일, 4일, 7일, 10일 및 14일에 털이 자라는 상태를 육안적으로 확인하기 위하여 2% isoflurane으로 가볍게 흡입마취한 후 디지털카메라(EOS-10D, Canon, Japan)로 사진 촬영하여 관찰하였다. 또한 육모상태를 수치화하여 비교검증하기 위해서, 디지털카메라로 촬영된 영상을 컴퓨터에 입력한 다음 National Institutes of Health(NIH)의 Image J 1.36 software를 사용하여 배부에서 털이 자란 부위의 면적비율을 측정하였다. 그 방법은 각각의 실험동물에서, 1일째의 영상에서 제모된 배부의 면적 (A)를 측정하고, 동일한 실험동물의 14일째 영상에서 검정색으로 털이 자란 면적 (B)를 측정한 다음 면적 (A)에 대한 면적 (B)의 백분율을 계산하여 자료로 사용하였다.

6. 피부조직의 처리

실험 14일째에 실험동물을 과용량의 sodium pentobarbital로 희생시킨 다음 배부의 피부조직을 채취하여 일부는 dry ice-isophentane으로 동결시켜 면역조직화학염색용으로 사용하였으며, 일부는 10% neu-

tral formalin 용액으로 고정하고 수세한 다음 탈수과정을 거쳐 파라핀포매하였다. 파라핀포매한 피부조직은 8 μ m의 두께로 절편되었으며, 털의 상태와 모낭을 관찰하기 위하여 Hematoxyline & Eosin(H&E) 염색을 실시하였다.

7. 성모 및 솜털 수의 측정

H&E 염색을 실시한 피부조직의 100배 영상에서 일정면적(1.2mm²) 내에서 관찰되는 모간의 수와 지름을 Image J 1.36 software를 사용하여 측정하였다. 모간의 지름이 30 μ m 이상인 것은 성모로, 지름이 20 μ m 이하인 것은 솜털로 판정하고 각각의 수를 자료로 사용하였다.

8. 면역조직화학염색

동결 피부조직 절편을 0.05M PBS로 5분간 3회 씻어내고, 1% H₂O₂에서 10~15분 정도 반응시킨 다음 다시 3회 씻어낸 뒤 10% normal horse serum(Vectastain)과 bovine serum albumin(Sigma)을 PBS에 섞은 blocking solution에 한 시간 정도 반응시켰다. 이후 PBS로 3회 씻어 낸 후, primary antibody를 처리하였다. Primary antibody의 처리는 anti-TGF- β 1(sc-146, Santa Cruz, USA)와 anti-EGF(MAB236, R&D Systems, USA)를 PBS와 Triton X-100을 섞은 용액으로 희석한 후 4℃에서 12시간 반응시켰다. 이후 조직을 PBS로 씻어내고, abidin-biotin immunoperoxidase의 방법(ABC Vectastain Kit)에 따라 각각 한 시간씩 반응시켰다. 다음 NiCl₂·H₂O(Sigma, USA)를 섞은 diaminobenzidine tetrachloride(Sigma, USA)에서 5~10분간 발색 반응시키고, 조직을 poly-L-lysine 코팅된 슬라이드에 붙인 후 2~3시간 건조시킨 다음 탈수, 봉합하여 조직표본을 제작하였다.

9. 토끼 안점막 자극 실험

生髮飲 피부도포 용액이 안점막에 미치는 영향으로 안전성을 알아보기 위해서, 건강한 토끼를 사용하여 生髮飲 30% 용액 약 1ml을 30분 간격으로 2회 좌측 안점막에 점적하였다. 이후 각막의 투명도와 염증반응 유무, 결막의 적열상태와 눈곱형성 유무 등을 시간경과에 따라 24시간동안 관찰하였다.

10. 통계분석

발모 면적비율, 모발 밀도 및 성모 비율 측정치에 대한 통계분석은 Student's T-test 방법을 사용하여 p<0.05 수준에서 대조군에 대해 검정하였으며, 또한 각 군간의 상관관계는 Duncan의 다중범위검증(Duncan's multiple range test) 방법을 전문통계 software를 사용하여 검증하였다.

III. 결 과

1. 발모상태의 육안적인 변화

제모 이후 생리식염수를 도포한 대조군은 7일까지 배부 전체가 제모된 상태의 분홍색 피부로 관찰되었고, 10일째에 털이 자라기 시작하여 부분적으로 회색 피부로 변했으며, 14일째는 부분적으로는 검정색 털이 자라났으나 여전히 부분적으로는 털이 자라기 시작하는 회색 피부가 관찰되었다. 이에 비하여 3% MXD를 도포한 MXD군은 피부도포 4일까지는 분홍색 피부가 관찰되었으나 7일째에는 배부 전체적으로 털이 자라기 시작하는 암청색 피부가 관찰되었고, 10일째에 이미 배부 전체적으로 검정색 털이 다 자란 상태가 되어 대조군에 비하여 확연한 발모촉진 효과를 나타내었다(Fig. 1). 生髮飲을 피부 도포한 sample-I군과 sample-II군은 피부도포 10일과 14일에서 MXD

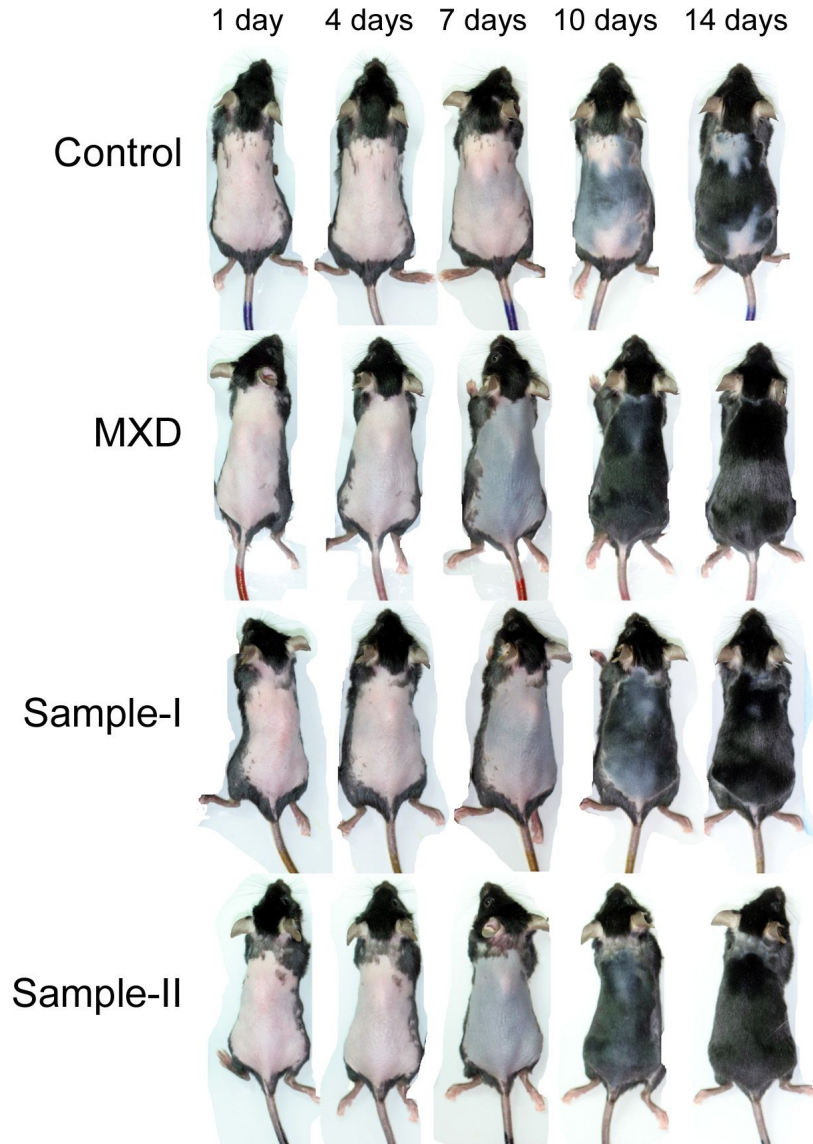


Fig. 1. Progress of hair growth of hair-removed C57BL/6 mouse for 14 days. Treatment of MXD and *Saengbal-eum* (*Shēngfà-yīn*, Sample-I and Sample-II) revealed hair growth promoting effect against hair-removed C57BL/6 mouse.

군과 유사한 정도의 발모상태를 나타내었다(Fig. 1). 이는 피부도포 한약물이 3% MXD과 유사한 정도의 발모촉진 효능을 가지고 있음을 보여주는 결과이다. 또한 生髮飲 30% 용액인 sample-I군과 100% 용액인

sample-II군 모두 피부도포 10일과 14일째에 유사한 상태의 발모상태를 나타내는 것으로 보아 30% 농도로도 충분한 발모촉진 효능을 발휘하는 것으로 관찰되었다.

Table II. Effect of *Saengbal-eum*(*Shēngfā-yīn*) on Hair Growth Area % of Hair-removed C57BL/6 Mouse

Group	Hair Growth Area(%)	Duncan test
Control	48.0±7.2	A
MXD	86.8±1.9*	B
Sample-I	81.7±3.6*	B
Sample-II	83.6±2.2*	B

Control: group applied with normal saline for 14 days after hair removal

MXD: group applied with 3% MXD ointment for 14 days after hair removal

Sample-I: group applied with 30% *Saengbal-eum*(*Shēngfā-yīn*) solution for 14 days after hair removal

Sample-II: group applied with 100% *Saengbal-eum*(*Shēngfā-yīn*) solution for 14 days after hair removal

Values represent the mean±SD (n=12).

: statistical significance with Student's T-test (: P<0.001).

Duncan multiple range test was analyzed with 0.05 level.

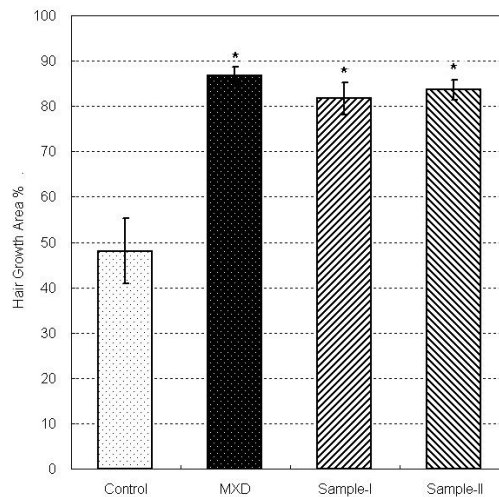


Fig. 2. Effect of *Saengbal-eum*(*Shēngfā-yīn*) on hair growth area % of hair-removed C57BL/6 mouse. Hair growth area % was increased significantly due to treatment of MXD and *Saengbal-eum*(*Shēngfā-yīn*, Sample-I and Sample-II). Statistical significance was presented asterisk marks(*: P<0.001).

2. 배부 발모면적 비율의 변화

제모 이후 14일째에, 각각 실험동물 배부에서 검정 색 털이 자라난 발모면적 비율을 측정한 결과, 생리 식염수를 도포한 대조군은 48.0±7.2%인 것에 비하여 MXD군은 86.8±1.9%로 유의성 있는 발모면적 비율의 증가가 관찰되었고, 生髮飲을 피부도포한 sample-I군은 81.7±3.6%, sample-II군은 83.6±2.2%로 역시 대조

군에 비하여 통계적으로 유의한 발모면적 비율의 증가를 나타내었다(p<0.001). 또한 MXD군과 sample-I군 및 sample-II군 간에는 유의한 차이가 없었으며, Duncan의 다중범위검증 결과 세 군 모두 동일 집단 군으로 판단할 수 있었다. 이러한 결과는 육안적인 발모상태의 변화와 일치하는 것으로, 生髮飲 피부도포가 3% MXD과 유사한 정도의 발모촉진 효능을 가지고 있음을 나타낸다(Table II, Fig. 2, 3).

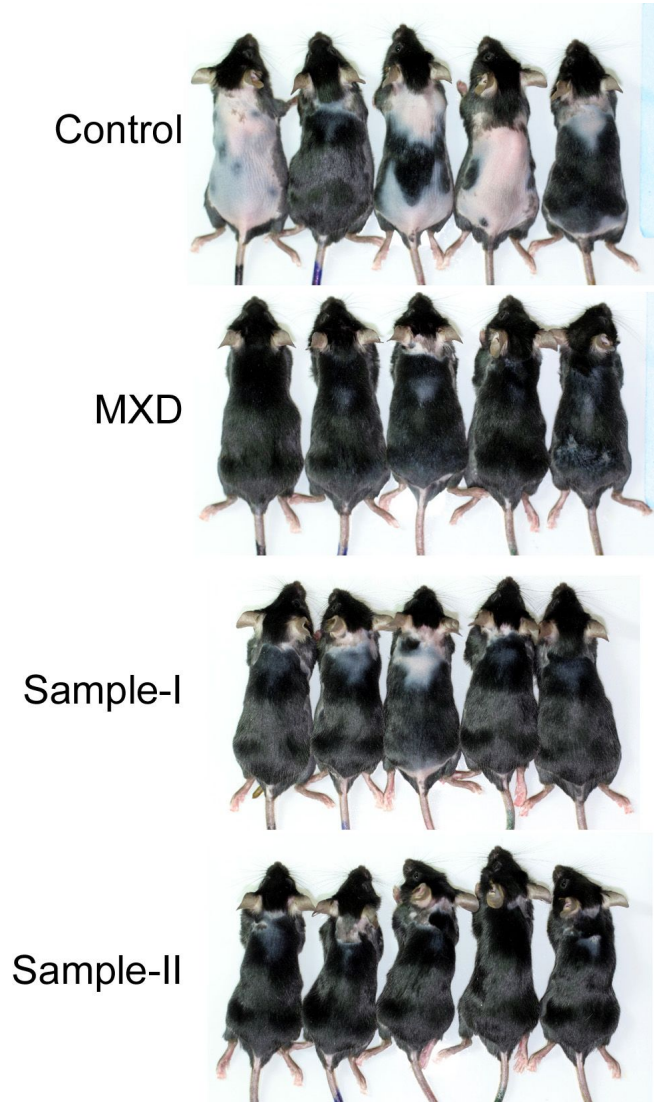


Fig. 3. Hair growth condition at 14th day after hair removal. Hair growth area % was increased significantly due to treatment of MXD and *Saenbal-eum*(*Shēngfà-yīn*, Sample-I and Sample-II).

3. 모발 밀도 및 성모 비율의 변화

제모 이후 14일째에, 각각 실험동물의 조직표본상에서 단위면적 당 총 모발 수 즉, 모발 밀도와 모발의 굵기에 따라 구분한 성모의 수 및 이의 비율을 측

정한 결과, 생리식염수를 도포한 대조군은 피부조직의 단위면적 당 모발의 밀도는 37.3 ± 1.9 개였고, 이 중 성모는 11.5 ± 1.5 개로 성모의 비율이 $30.8 \pm 3.3\%$ 였다. 이에 비하여 MXD군은 단위면적 당 모발의 밀도는 51.5 ± 1.2 개, 이 중 성모는 25.3 ± 1.9 개로 성모의 비율이 49.1

Table III. Effect of *Saengbal-eum*(*Shēngfā-yīn*) on Hair Density, Number of Terminal Hair, and Terminal Hair Ratio of Hair-removed C57BL/6 Mouse

Group	Hair Density(total number)	Terminal Hair(number)	Terminal Hair Ratio (%)
Control	37.3±1.9	11.5±1.5	30.8±7.2
MXD	51.5±1.2*	25.3±1.9*	49.1±2.5*
Sample-I	48.2±1.7*	22.7±2.1*	47.1±3.1*
Sample-II	52.1±1.5*	24.8±2.0*	47.6±2.8*

Control: group applied with normal saline for 14 days after hair removal

MXD: group applied with 3% MXD ointment for 14 days after hair removal

Sample-I: group applied with 30% *Saengbal-eum*(*Shēngfā-yīn*) solution for 14 days after hair removal

Sample-II: group applied with 100% *Saengbal-eum*(*Shēngfā-yīn*) solution for 14 days after hair removal

Values represent the mean±SD (n=12).

: statistical significance with Student's T-test(: P<0.001).

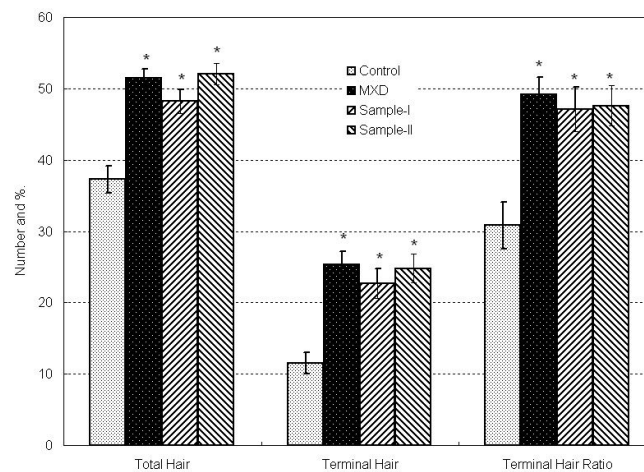


Fig. 4. Effect of *Saengbal-eum*(*Shēngfā-yīn*) on hair density, number of terminal hair, and terminal hair ratio of hair-removed C57BL/6 mouse. Treatment of MXD and *Saengbal-eum*(*Shēngfā-yīn*, Sample-I and Sample-II) revealed significant increase of hair density, number of terminal hair, and terminal hair ratio. Statistical significance was presented asterisk marks(*: P<0.001).

±2.5%로 증가하여 모발의 밀도, 성모의 수 및 성모 비율 모두 대조군에 비하여 통계적으로 유의한 증가를 나타내었다(P<0.001, Table III, Fig. 4, 5). 生髮飲 30% 용액을 14일간 피부 도포한 sample-I군은 단위면적 당 모발의 밀도는 48.2±1.7개, 이 중 성모는 22.7±2.1개로 성모의 비율은 47.1±3.1% 이었고,

生髮飲 100% 용액을 14일간 피부 도포한 sample-II군은 단위면적 당 모발의 밀도는 52.1±1.5개, 이 중 성모는 24.8±2.0개로 성모의 비율은 47.6±2.8%로 모두 대조군에 비하여 통계적으로 유의한 증가를 나타내었다(P<0.001, Table III, Fig. 4, 5). MXD군과 30%, 100% 生髮飲군 사이에는 유의한 차이가 없었다.

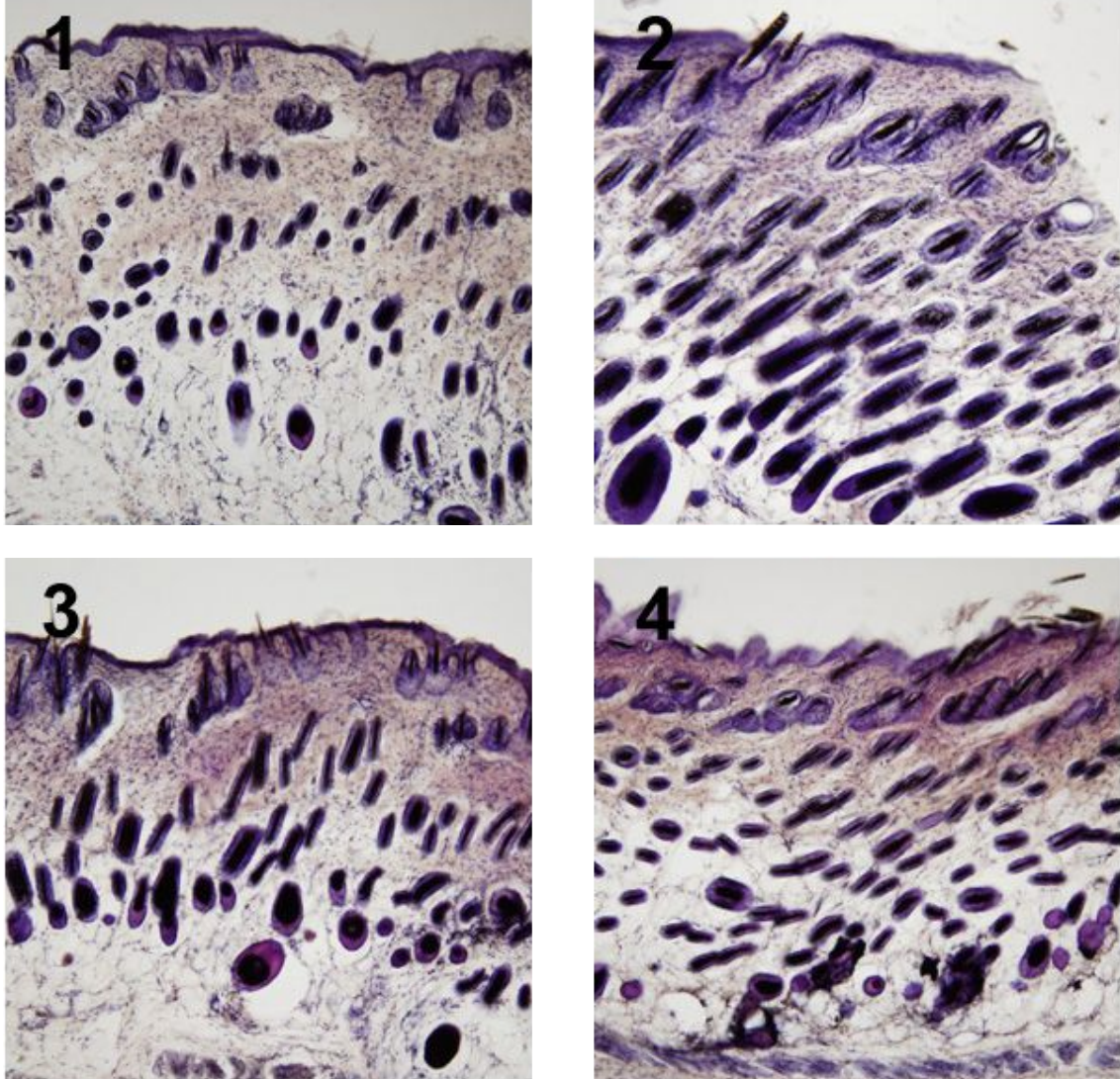


Fig. 5. Sections of H-E stained skin tissues of hair-removed C57BL/6 mouse. Treatment of MXD(section 2) and *Saengbal-eum*(*Shēngfā-yīn*, section 3 and 4) revealed significant increase of hair density, number of terminal hair, and terminal hair ratio with respect to control(section 1).

4. TGF- β 1 발현의 변화

제모 이후 14일째에, 각각 실험동물의 피부조직을 TGF- β 1에 대한 면역조직화학염색을 시행하여 관찰한 결과 생리식염수를 도포한 대조군, 3% MXD을

도포한 MXD군, 生髮飲을 피부도포한 sample-I군과 sample-II군 모두에서 모발의 굵기가 일정 수준 이상인 성모와 굵기가 가는 솜털 모근의 outer root sheath와 inner root sheath에서 TGF- β 1의 발현을 관찰하기 어려웠다. 일부 굵기가 가는 솜털의 inner root

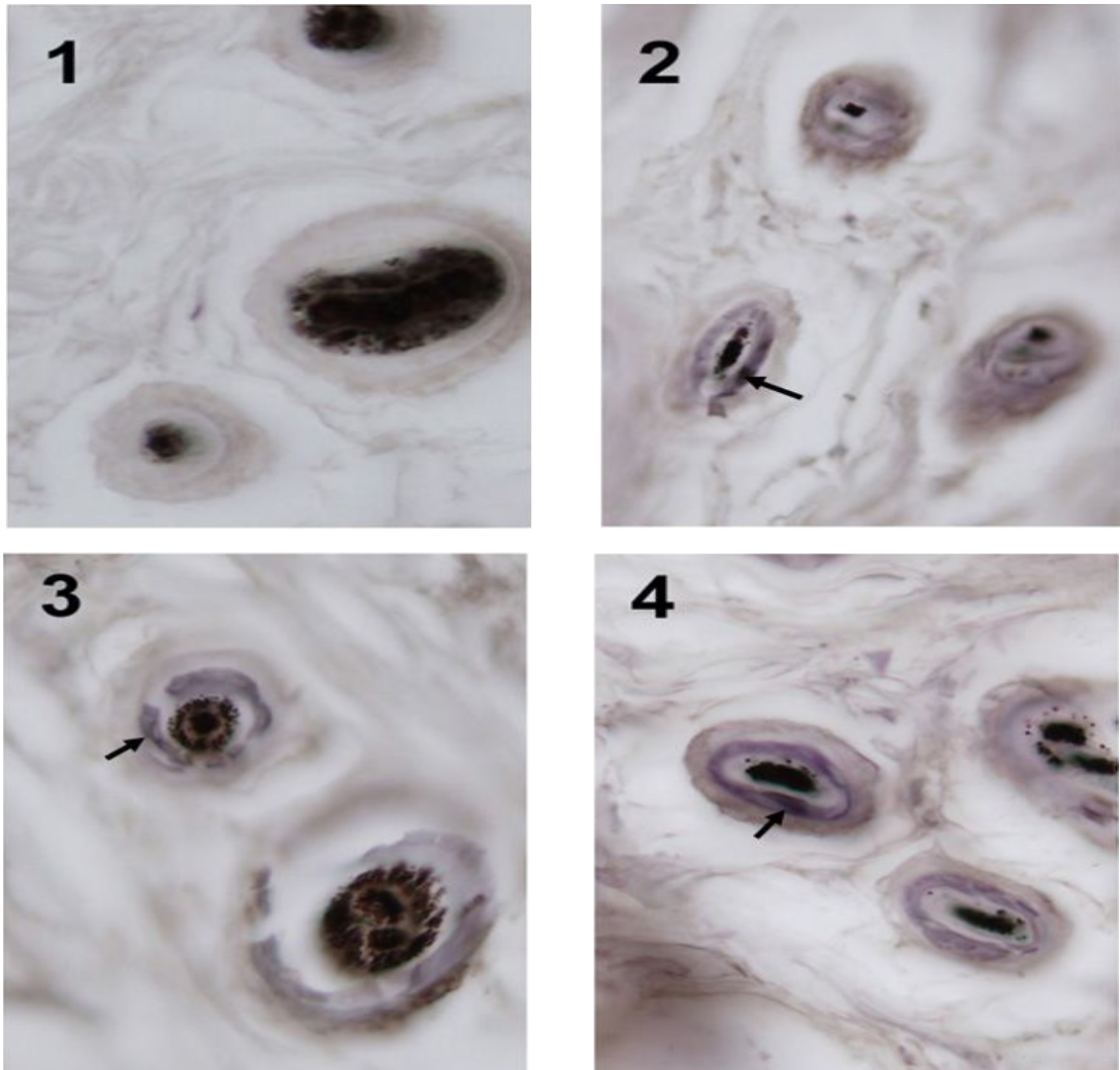


Fig. 6. Sections of immunohistochemistry against TGF- β 1 on skin tissues of hair-removed C57BL/6 mouse. Treatment of MXD(section 2) and *Saengbal-eum*(*Shēngfā-yīn*, section 3 and 4) revealed weak immuno-positive reactions(black arrow) on inner root sheath. Section 1 shows negative immuno-reaction of control skin tissue.

sheath에서 TGF- β 1가 발현되는 것을 관찰할 수 있었으나 이 역시 MXD군, sample-I군 및 sample-II군 모두에서 큰 차이가 없었다(Fig. 6). 이는 MXD와 生髮飲이 TGF- β 1 발현과 관련이 없거나 또는 발현을 억제한 결과로 추측된다.

5. EGF 발현의 변화

제모 이후 14일째에, 각각 실험동물의 피부조직을 EGF에 대한 면역조직화학염색을 시행하여 관찰한 결과, 생리식염수를 도포한 대조군은 모발의 굵기가 일정 수준 이상인 성모와 굵기가 가는 솜털의

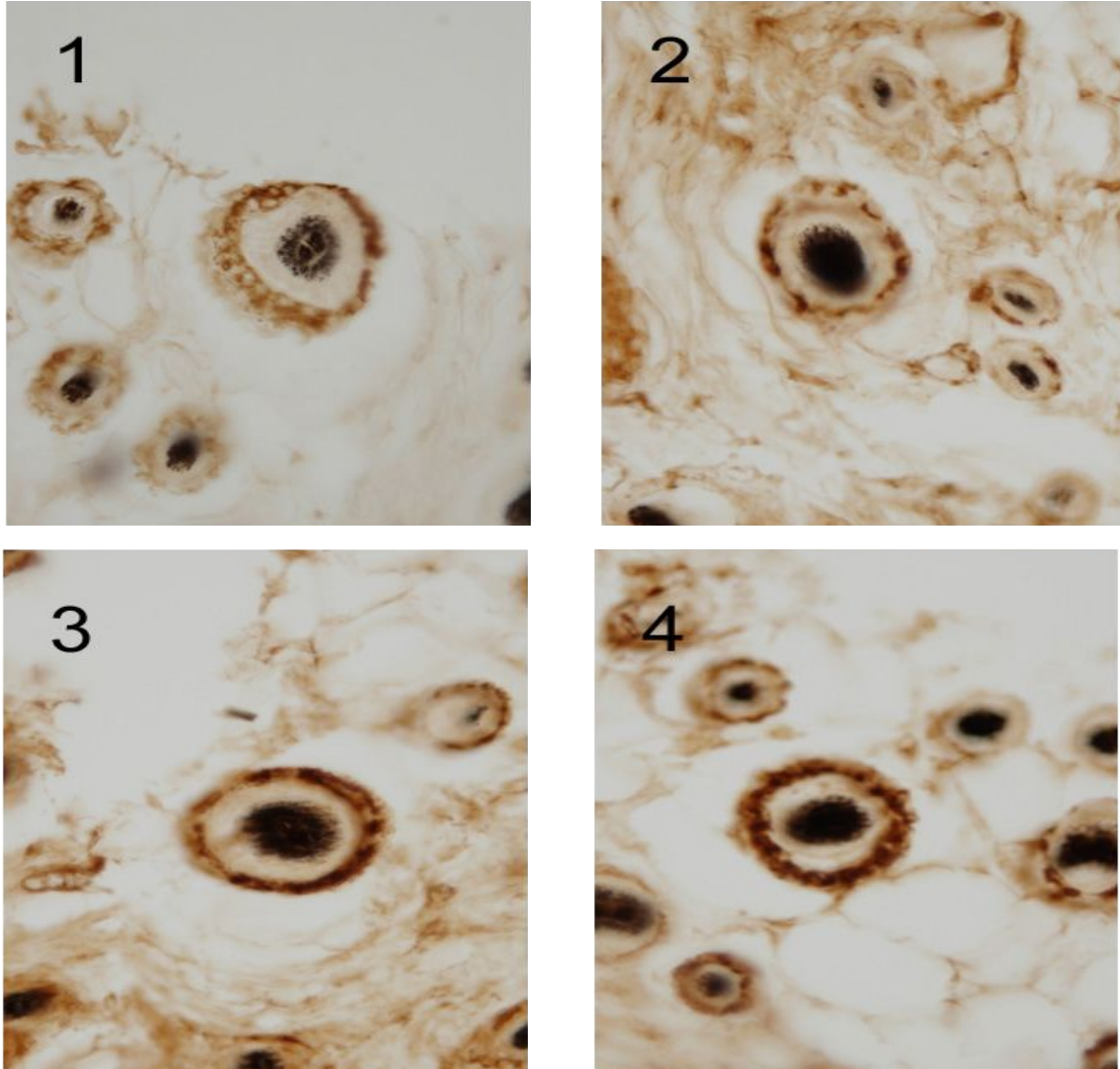


Fig. 7. Sections of immunohistochemistry against EGF on skin tissues of hair-removed C57BL/6 mouse. The control skin tissue(section 1) and treatment of MXD(section 2) showed weak(+) or moderate(++) immuno-positive reactions on outer root sheat. Treatment of *Saengbal-eum*(*Shēngfà-yīn*, section 3 and 4) revealed strong(+++) immuno-positive reactions on outer root sheat.

모근 outer root sheat에서 약한(+) 또는 중등도(++)의 양성반응을 나타내었으며, inner root sheat에는 음성반응(-)을 나타내었다. MXD군 역시 대조군과 유사한 면역조직화학반응 양상을 나타내었다. 이에 비하여 生髮飲을 피부도포한 sample-I군과 sample-II

군에서는 전체적으로는 대조군 및 MXD군의 면역조직화학반응 양상과 큰 차이가 없었으나 일부 굵기가 일정 수준 이상인 성모의 out root sheat에서는 EGF에 대하여 강한(+++) 양성반응을 나타내는 모근들이 관찰되었다(Fig. 7). 이러한 관찰 결과 生

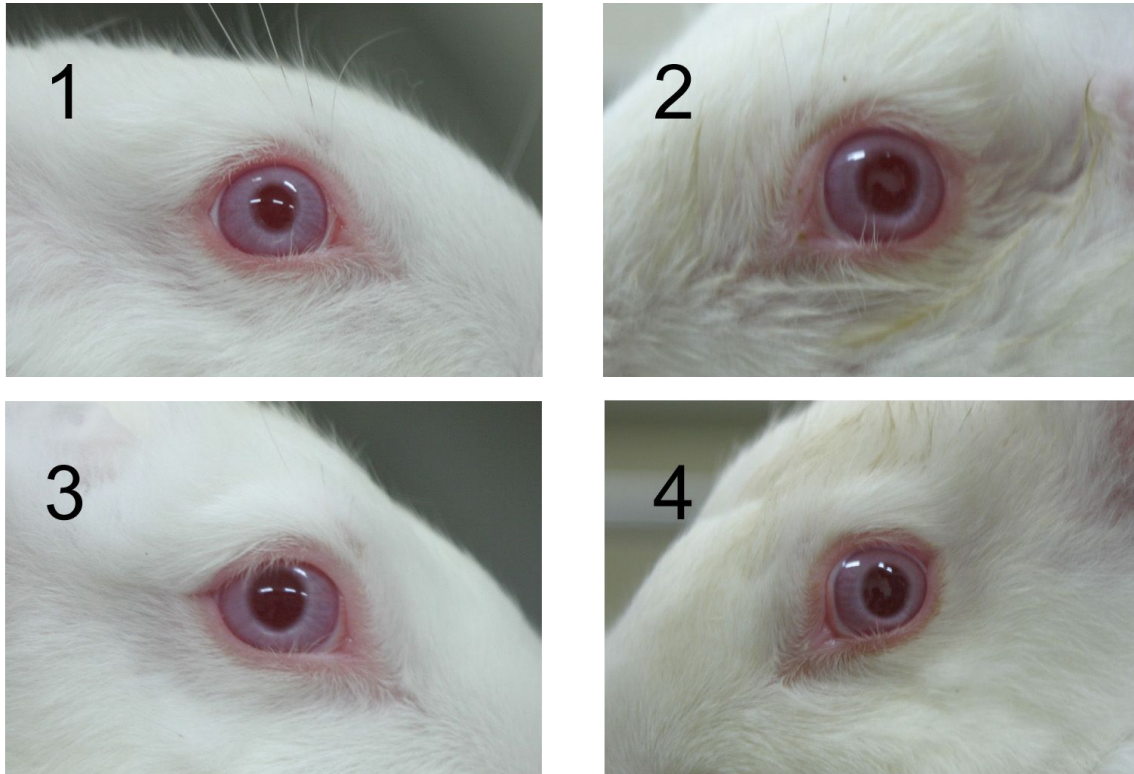


Fig. 8. Sections of rabbit eye dripped 30% solution of *Saengbal-eum*(*Shēngfā-yīn*). Dripping of 30% *Saengbal-eum*(*Shēngfā-yīn*) solution did not give rise to eye irritation for 24 hours. Section 1, intact eye(right side) at 1 hour after dripping; section 2, dripped eye(left side) at 1 hour after dripping; section 3, intact eye(right side) at 24 hours after dripping; section 4, dripped eye(left side) at 24 hour after dripping.

髮飲은 모근의 EGF 발현에 영향을 미쳐 육모를 촉진하는 것으로 생각된다.

6. 토끼 안점막에 미치는 영향

生髮飲 용액을 건강한 토끼의 안점막에 점적한 다음 각막의 투명도와 결막의 적열상태, 눈곱형성 유무 등을 시간경과에 따라 관찰한 결과, 특이한 변화 또는 염증반응이 24시간 이후까지 관찰되지 않았다(Fig. 8). 이는 生髮飲이 안점막을 과민자극하지 않는 것을 의미한다.

IV. 고 찰

사람의 모발은 성장노쇠의 과정과 자연탈락의 현상을 가지고 있어 수명이 짧게는 수개월, 길게는 2~4년에 이르는데, 모발의 성장과 탈락이 평형을 유지함으로써 전체적인 두부의 모발은 일정한 기본외형을 유지하고 있다. 탈모증은 정상적으로 모발이 존재해야 할 부위에서 이들이 소실되는 질환들을 총칭하는 것으로 주로 두부에 발생한다²³⁾.

탈모증의 원인에 대해서는 아직 명확하게 밝혀져 있지 않으나 바이러스 감염, 외상, 혈관운동 불안정성, 유전적 소인, 남성호르몬을 중심으로 한 내

분비 이상, 정신적 요인, 영양결핍, 흡연 및 음주, 모발공해, 약물복용, 아토피 및 지루성 피부염 등이 관여될 것으로 생각되어 왔으며 최근에는 자가면역적인 질환일 가능성도 제시되고 있다¹⁰⁾.

지금까지 개발된 발모제나 양모제들은 대부분 혈액순환 부전이나 영양장애, 지루성 피부염, 스트레스 등 대머리가 되는 간접적 원인들을 호전시킴으로써 탈모방지 및 발모를 유도하는 것들로 그 효과가 완벽하지 못하며 사용을 중단할 경우 다시 모발이 빠지기 시작하여 원래의 탈모된 상태로 되돌아가므로 효과가 지속적이지 못한 단점이 있다²⁴⁾. 현재 모발성장을 촉진하는 약물로는 MXD와 finasteride가 잘 알려져 있으며 미국 Food and Drug Administration(FDA)의 승인을 받은 제품들이다. MXD은 원래 고혈압 치료를 위한 혈관확장제로 개발되었으나 부작용으로 다모증이 보고되면서 발모제로 개발되었고 그 발모효과에 대한 작용기전은 현재까지 명확히 밝혀지지 않았지만 혈관확장을 통한 영양공급 증가 및 K⁺ channel opening 효과 등이 모발성장을 유도하는 것으로 생각되고 있다²⁵⁾. 또한 finasteride는 남성호르몬 대사에 작용하는 효소인 5 α -reductase의 활성을 억제시키는 물질로 알려져 있다²⁶⁾. MXD과 finasteride도 발모 및 탈모방지 효과를 유지하기 위해서는 평생 동안 지속적인 사용이 요구되며, 이에 따른 부작용과 지속의 어려움으로 인해 사용이 제한되는 실정이다^{27,28)}. 최근에는 탈모치료를 위해 모유두세포의 활성 촉진, 모유두세포로의 혈액순환 개선, 피지분비의 억제, 남성호르몬 전환의 억제, 모발성장주기 중 성장기에서 퇴행기·휴지기로의 이행을 촉진시키는 물질인 TGF- β 의 활성을 억제하는 방향으로 연구가 진행되고 있다¹⁰⁾.

약물 치료 이외에 많이 사용되는 치료방법으로는 모발이식술과 같은 수술요법과 부신피질호르몬제나 기타 다양한 약물을 국소에 주입하는 주사요법, 국소 UV 조사, 비특이성 자극제의 국소도포요

법 등이 있다²³⁾. 하지만 명확한 원인이 밝혀지지 않은 만큼 아직까지 뚜렷한 치료방법이 제시되지 않았으며, 상기한 여러 치료법들도 다양한 부작용과 지속되지 않는 치료효과 등으로 인해 그 사용이 제한되고 있다²⁸⁻³⁰⁾.

한의학에서 탈모증과 관련된 기록을 살펴보면 《黃帝內經》¹⁴⁾에 髮墮, 髮落, 毛折, 髮去, 毛拔 등으로 수록되어 있으며 그 후 隋代에 이르러 巢元方的《諸病源候論》¹²⁾에 ‘鬚髮禿落候’, ‘鬼舐頭候’, ‘毛髮不生候’, ‘白禿候’, ‘赤禿候’, ‘火燒處 髮不生候’의 證候名이 등장하며, 이 중 ‘鬼舐頭候’의 증상을 ‘風邪가 머리에 있어 偏處한 곳에 禿落을 發하고 肌肉이 枯死한다. 동전이나 손가락 크기로 머리가 不生하며 가렵지 않다.’라 설명하였는데 이는 오늘날 원형탈모증 혹은 頭部白癬과 흡사하며 ‘鬚髮禿落候’의 증상은 오늘날 남성형 탈모와 흡사하다. 唐代 孫思邈의《千金方》³¹⁾에는 ‘頭風白屑’, ‘白禿’, ‘赤禿’, ‘髮落不生’ 등의 명칭이 나타나는데, ‘頭風白屑’은 현대의 건선지루성탈모에 해당한다. 明代 이후에는 脫毛症에 대하여 보다 발전된 인식을 하게 되었는데 陳實功의 저술인《外科正宗》³²⁾의 ‘油風’과 清代의《醫宗金鑑》³³⁾의 ‘鬼剃頭’의 개념은 오늘날의 원형탈모증과 유사하다.

한의학에서 말하는 탈모의 원인을 살펴보면 巢¹²⁾는 ‘鬚髮禿落候의 原因은 血氣衰弱經脈虛竭不能榮潤이고, 十二經絡의 氣血多小에 있어서 經氣가 쇠해지면 모발이 쇠해진다’고 하였고, 李¹⁵⁾는 “髮者 血之餘”, “血盛則髮潤 血衰則髮衰”라 한 것처럼 氣血의 盛衰가 가장 중요한 기전임을 알 수 있다. 여기에 ‘主氣’, ‘主皮毛’하는 肺, ‘主運化’하는 脾, ‘主藏精’, ‘其在髮’하는 腎의 기능부조와 風, 風熱, 濕熱, 火, 內傷七情, 血熱, 瘀血, 飲食傷 등 각종 內因, 外因, 不內外因이 겹칠 때 脫髮이 일어난다고 하였다¹⁸⁾.

탈모의 治療에 있어서는 辨證施治를 통한 內治法과 약물을 사용한 外治法, 體鍼療法, 藥針療法, 光學療法 등이 있으며¹⁸⁾, 이중 한약재를 이용한 내

치법과 외치법의 연구들이 최근 활발하게 진행되고 있다.

이 등³⁴⁾은 桑白皮를 메탄올 추출하여 Keratin hydrate, D-Panthenol, Biotin, Nicotinic acid 등과 혼합하여 인공 탈모시킨 흰쥐에 도포한 후 증류수를 도포한 군과 비교한 결과 桑白皮 혼합물이 대조군보다 우수한 육모효과를 나타내었다고 보고하였다. 최 등³⁵⁾은 桑白皮, 木瓜, 槐角, 樺皮, 瓜菜, 木香, 側柏葉, 當歸, 桑寄生, 桑葉, 薄荷, 升麻, 旱蓮草, 藜蘆, 何首烏, 訶子, 胡挑, 白芷 등 총 19종의 한약재를 각각 메탄올로 추출한 후 여과하여 감압 농축시킨 후 에탄올로 희석해 in vivo, in vitro 실험을 한 결과 槐角, 何首烏, 訶子 등에서는 대조군에 비해 약 1.5에서 2.0배의 모발성장촉진 효과가 있었고, 桑白皮, 木瓜, 木香, 當歸, 何首烏, 白芷 등은 1% 농도에서 5 α -reductase type II의 활성을 억제시키는 것으로 나타났다고 하였다. 노³⁶⁾는 苦蔘 추출물을 이용한 mouse실험 결과, 대조군에 비해 뚜렷한 모발성장효과를 보였고 30일 후에는 유의한 수준의 육모효과가 있었으며, 5 α -reductase type I, type II의 활성을 억제시켰다고 하였다. 신³⁷⁾은 五倍子, 桑枝, 銀杏葉, 細辛, 黑豆의 추출물로 mouse를 이용해 실험한 결과, 細辛 추출물이 유의한 수준의 발모 및 모낭조직의 단백질 합성 촉진 효과가 나타났으며, 黑豆 추출물은 모유두세포의 DNA 합성을 촉진시키는 효과가 있었고, 五倍子 추출물은 5 α -reductase type II를 억제하는 효과가 있었다고 하였다. 김 등³⁸⁾은 側柏葉, 桑葉, 竹葉, 銀杏葉, 松葉, 甘草, 人蔘, 白頭翁, 地膚子, 枸杞子, 黑豆, 黑芝麻, 夏苦草, 五加皮, 大麻, 昆布 등으로 이루어진 스프레이와 여기에 熟地黃, 白茯苓, 山茱萸, 澤瀉, 아가리쿠스 버섯, 蒲公英, 柏子仁 등을 가미하여 이루어진 복용약을 제조하여 탈모 환자들을 대상으로 임상실험을 실시한 결과 특별한 부작용 없이 모발의 상태를 개선하고 모발의 단위 면적당 밀도를 증가시키는 유의성 있는 효과가 있는 것으로 나타

났다고 하였다. 박 등³⁹⁾은 柏子仁, 山茱萸, 薏苡仁, 枸杞子, 甘草 등 5가지 한약재의 추출물로 만든 헤어에센스가 육모 및 탈모 방지에 미치는 효과를 관찰하여 양방의 대표적인 탈모 도포제인 미녹시딜과 비교 실험한 결과 모발의 성장주기 유도 및 탈모 억제 효과가 미녹시딜과 거의 동등하게 나타났다. 김 등⁴⁰⁾은 川芎, 當歸, 人蔘, 杏仁, 海藻, 魚腥草, 神仙草 등 한약재를 이용하여 만든 비누인 生毛根을 탈모환자에게 臨床실험을 시행한 결과 모발 개수의 증가와 모발 탈락율의 감소가 시간의 변화에 따라 통계적으로 유의성 있게 변화하였다고 하였다.

본 연구에서는 이상의 연구결과들과 문헌 등 기존에 알려진 탈모처방들을 근거로 하여 육모촉진 및 氣血補強, 清熱解毒, 抗菌作用, 말초혈액순환개선작용이 보고되고 있는 艾葉, 當歸, 側柏葉, 苦參, 白芷, 升麻, 蒼朮, 石榴皮 등 8종의 한약재를 배합 처방하여 生髮飲이라고 명명하고 실험에 사용하였다.

生髮飲을 구성하는 8종의 한약재중 艾葉은 국화과에 속한 다년생 초본으로 散寒止痛, 溫經止血하며 외용시 피부소양증을 치료하는 효과가 있다⁴¹⁾. 아울러 외용약제로 쓰인 한약외용약 중 많이 쓰인 海艾湯의 主藥이다⁴²⁾. 주된 약리작용으로는 항균작용이 있으며⁴³⁾, 말초혈관 확장⁴⁴⁾ 및 혈소판 응집 억제 작용으로⁴⁵⁾ 혈액순환 개선 효과가 있다. 피부소양감 억제와 말초혈액순환 개선 효과에 착안하여 본 연구에서는 다른 약제에 비해 艾葉의 구성 비율을 높였다.

當歸는 산형과에 속한 다년생 초본으로 補血, 調經劑이다⁴¹⁾. 효능은 補血, 行血, 潤腸, 調經하고 주된 약리작용으로는 항빈혈, 항균, 항염, 항혈전, 조혈, 혈관신생, 혈관이완, 면역기능 향상, 혈중지질 농도의 강하 등이 있으며, 특히 심혈관계에 대하여 혈관이완에 의한 혈류량 증가, 혈중지질을 낮추는 등의 반응을 나타낸다⁴²⁾. 인체의 기혈이 부족해지면 모발이 약해지고 탈락되는데⁴⁵⁾, 當歸는 대표적

인 보혈제로 심혈관계에 영향을 보이며 혈관에 대한 작용과 더불어 혈액에 대한 반응으로 혈관신생 작용을 가지는 것으로 알려져 있다⁴⁶⁾. 또한 當歸에는 androgen 및 androgen receptor activities를 저해하는 작용이 있어 남성형 탈모에 효과가 있을 것으로 생각된다⁴⁷⁾.

側柏葉은 측백과에 속한 상록교목인 측백나무의 잎으로 효능은 涼血止血, 止咳化痰하는 효과가 있고⁴¹⁾, 진해거담작용, 기관지평활근 이완, 안정작용, 항균작용 등의 약리작용이 있다⁴²⁾. 모낭 상피와 말초 혈관에 작용하여 모세포를 활성화시켜 모발 생성을 촉진시키고 두피도 개선시키는 성분이 함유되어 있다⁴⁸⁾. 또한 側柏葉은 모낭세포(모유두세포)의 성장 촉진과 항남성호르몬 작용 및 type 2 5 α -reductase 효소기능 저해를 통한 모발주기의 정상화 기능이 있으며⁴⁹⁾ 임상연구에서 모발상태의 개선 및 모발의 단위면적당 밀도증가 효과가 있었다³⁸⁾.

苦參은 콩과에 속한 다년생 초본인 고삼의 뿌리로 清熱燥濕, 祛風殺蟲, 利尿하는 효능이 있고⁴¹⁾ 이뇨, 항균작용, 거담, 항종양작용 등의 약리작용이 있다⁴²⁾. 다양한 탈모의 원인에 대한 여러 가지의 치료법이 제시되고 있지만 그중 5 α -reductase의 작용을 억제하고 모낭세포를 활성화하여 탈모를 방지하는 기전의 치료제 개발이 활발히 진행되고 있는데, 苦參은 천연 생약 중 type II 5 α -reductase 저해 효과가 우수하다고 알려져 있다¹⁹⁾. 고삼 추출액을 C57BL/6 mouse의 피부에 도포한 결과 telogen기에서 anagen기로의 조기 변화가 유발되었으며 이는 모유두세포의 IGF-1나 KGF와 같은 growth factors의 조절을 통해 이루어지는 것으로 생각된다^{36,50)}.

白芷는 산형과에 속한 2~3년생 초본인 구릿대의 뿌리로, 去風除濕, 通竅止痛, 消腫排膿의 효능이 있으며⁴¹⁾, 외용시 항균작용이 있다⁴²⁾. 또한 “治頭面皮膚風痺燥痒”라 하여 한의학에서 두면부의 제반 피부병에 사용된다⁵¹⁾.

升麻는 미나리아재비과에 속한 다년생 초본인 升麻의 근경으로 發表透疹, 清熱解毒, 升舉陽氣의 효능이 있으며⁴¹⁾ 항균작용, 혈압 및 심박수 강화, 해열진통작용 등의 약리작용이 있다⁴²⁾.

蒼朮은 국화과에 속한 다년생 초본인 삼주의 근경으로 燥濕健脾, 祛風散寒, 明目的 효능이 있으며⁴¹⁾, 艾葉과 같이 혼연하면 항균작용이 있는 것으로 알려져 있다⁴²⁾.

石榴皮는 석류과에 속한 낙엽소교목인 석류나무의 성숙한 과실의 과피로 瀉腸止瀉, 止血, 殺蟲의 효능이 있으며⁴¹⁾ 살충, 항균작용이 있다⁴²⁾. 石榴皮에는 항산화 작용⁵²⁾ 및 상처치유촉진작용이 있다고 알려져 있다⁵³⁾.

일반적으로 모발성장주기는 3단계로 구성되는데, 모발이 가장 활발하게 성장하는 anagen기, 모발의 퇴화가 시작되는 catagen기 및 모발의 성장이 멈추거나 휴지기에 접어드는 telogen기로 분류하게 된다⁵⁴⁾. 이러한 모발의 각 성장주기에 다양한 인자들이 작용함으로써 양모 또는 탈모를 유발하게 된다. 탈모의 조직학적 특징 중 하나는 anagen기 모낭이 충분히 길어지지 않는다는 것이다. 자라나는 모발의 두터움은 모낭의 크기로 결정되므로 초기 anagen기에서 중기 anagen기까지 자라나는 모낭의 길이가 정상 모발 주기에서 매우 중요하다^{55,56)}.

탈모의 중요 연구 대상 중에서 모낭의 상피세포인 모유두세포는 모낭형성을 촉진할 수 있는 능력을 가지며 모발형성을 위한 모낭주기에서도 중요한 역할을 한다. Jahoda 등⁵⁷⁾은 implantation method를 이용하여 모구(hair bulb)가 제거된 모낭의 하단부에 모유두세포를 이식할 경우 다시 모낭이 재생되는 것을 관찰하였다. 이러한 모유두세포의 모낭형성 촉진 기능은 모유두세포를 체외 배양한 경우에도 유지되는 것으로 보고되었다⁵⁸⁾. 모유두세포의 모발성장 조절에 대한 정확한 기전은 잘 알려져 있지 않지만 모유두의 크기가 모발의 성장과 직접적인 관련이 있음이 밝혀져 있다. 모낭주기와 관련

해서는 telogen기에 위축되어 있던 모유두가 비대해지면서 상피계 세포의 증식이 일어나 큰 모구부를 형성하고 이것이 피부의 진피층으로 내려가 모발이 성장하는 것으로 추측된다. 또한 모유두에는 혈관조직이 연결되어 있고 남성호르몬의 수용체도 위치하고 있어 남성형 탈모증에서 핵심적인 역할을 하는 남성호르몬의 작용부위도 모유두세포로 확인되며 최근에는 모유두로부터의 paracrine factor가 분열을 조절하는 것으로 추측되고 있다⁵⁸⁾. 이상에서 모유두세포는 모낭의 발생과 모발주기, 그리고 발모와 탈모에 중요한 역할을 하는 것으로 알려지고 있으며^{59,60)}, 최근 苦參 추출물, 은행잎 추출물, 何首烏, 竹節人蔘, 唐藥 등 많은 한약 추출물들이 동물 실험이나 모낭 조직과 세포를 이용한 실험에서 모유두세포에 영향을 미치며 모발성장에 효과가 있다고 보고되고 있다⁶¹⁾.

발모, 양모 및 탈모예방 연구에 이용되는 실험법으로는 실험동물을 이용한 in vivo 평가와 모낭세포 및 조직배양을 이용한 in vitro 평가 등이 주로 이용되고 있다⁶²⁾. in vitro 평가에서는 모낭을 구성하고 있는 핵심 세포인 모유두세포(dermal papilla cell)와 외모근초세포(outer root sheath cell)의 배양을 통해 모낭에서의 분화기전을 연구하지만, 이 방법은 모낭조직 내에서의 세포간의 상호작용과 모낭조직과 주위를 둘러싼 진피조직과의 상호작용, 그리고 혈액순환이 배제되는 등 모발성장에 직, 간접적으로 영향을 미칠 수 있는 많은 요소들이 배제되어 있어 한계성을 지니고 있다^{63,64)}. 따라서 각종 생화학적 평가를 통해 탐색되는 많은 약물들의 실제 효과를 검증하기 위해서는 아직까지 실험동물을 이용한 효능평가 및 임상실험 등이 주로 이용되고 있다⁶⁵⁾.

발모, 양모 및 탈모방지 등의 효과를 평가하기 위하여 이용되는 실험동물모델로는 붉은꼬리원숭이(Stumptailed macaque), 토끼(rabbit), 햄스터(hamster), 생쥐(mouse) 등이 있다. 이중에서 본 연구에 사

용된 C57BL/6 mouse는 체모가 검정색이고, 자발적 탈모(spontaneous alopecia)가 일어나는 특징을 지니고 있으며, 또한 melanocyte가 모낭에만 한정적으로 존재하고 melanin 합성이 모발 성장주기(hair growth cycle)와 잘 일치되어 피부색으로 모발의 성장주기를 판정할 수 있는 장점을 가져 모발 생리 연구에 널리 이용되고 있다^{66,67)}.

본 실험에서는 androgen의 작용이 배제된 상태에서 양모효과를 관찰하기 위하여 암컷 C57BL/6 마우스를 실험동물 모델로 사용하였는데, C57BL/6 마우스는 6주령부터 모발 주기가 telogen기로 들어간다고 알려져 있다⁶⁸⁾. 이 연구에서는 5주령된 실험동물을 구입하여 1주일간 순화기간을 거쳐서 6주령된 마우스를 가지고 실험을 시작하였다.

최근에는 생화학적, 분자생물학적 실험 방법을 이용하여 모발 성장과 관련된 각종 cytokine이나 유전자의 동정, 작용기전 연구 및 약물탐색연구가 활발히 진행되고 있다. 그 중에서 여러 종류의 cytokine들은 모발의 성장주기에 따라서 다양한 역할을 수행하여 양모, 또는 탈모를 유발하므로 탈모의 연구에 널리 사용되고 있다. 특히 모유두세포는 전술한 바와 같이 주위의 상피계 세포의 분열을 조절하는 능력이 있는데, 이러한 기능도 분비성 cytokine에 의해 조절된다고 알려져 있다⁵⁸⁾. 모유두로부터 분비된 cytokine은 상피계 세포막 표면에 존재하는 수용체와 결합해 그 정보를 세포내로 전달시키는 일종의 매개자 역할을 한다³⁾. 지금까지 밝혀진 탈모기전에 관련된 cytokines에 대한 연구내용들을 살펴보면, 피부에 존재하는 cytokines 중 IL-1과 TNF는 모발세포의 세포사를 유발함으로써 탈모를 일으키게 된다³⁾. 또한 TGF- β 1, 2는 모발의 anagen기 성장을 방해하여 탈모를 일으키고, 남성호르몬 androgen은 모발의 anagen기를 짧게함으로써 정상보다 빨리 catagen기로 접어들게 하여 탈모를 유발한다⁴⁾. 한편, hair follicles에 영양분과 산소를 공급하기 위한 혈관생성에 도움을 주며 인체 모유두세포에서

생성되어 모발의 성장을 촉진시키고 세포소멸의 억제를 통해 새로 형성된 혈관의 생존을 유지시키며 모세혈관에서 혈장단백질을 투과를 증가시키는 cytokine으로 세포의 분열과 이동을 촉진시키는 작용을 하는 EGF와, 섬유아세포의 분열을 촉진하고 세포의 신호전달체계를 활성화하여 유전자발현을 조절하며 모발의 성장을 촉진시키며, 모발의 탈색을 억제시키고 피부재생촉진작용과 노후조직의 회복 및 상처 치료 효과를 겸하고 있는 FGF, 그리고 세포 성장을 촉진하는 IGF-1 등과 같은 성장인자들은 모발의 성장을 촉진하고 모발세포의 세포사를 방지하여 육모작용을 하는 것으로 알려져 있다^{3,5)}. 이 연구에서는 이 중에서 모발성장을 방해하는 TGF- β 1과 모발 성장을 촉진하는 EGF를 이용하여 육모 효과를 평가하였다.

본 연구에서 발모상태의 변화를 관찰한 결과 대조군의 경우 4일까지 별다른 변화가 나타나지 않았으나 3% MXD를 도포한 MXD군과 生髮飲을 피부 도포한 sample-I군 sample-II군은 7일째에 배부 전체적으로 털이 자라기 시작하여 10일째에는 검정색 털이 다 자라난 상태가 되어 대조군에 비하여 확연한 발모촉진 효과를 나타내었다.

배부의 발모면적을 측정한 결과, 생리식염수를 도포한 대조군은 48.0 $\pm$ 7.2%인 것에 비하여 MXD군은 86.8 $\pm$ 1.9%로 유의한 발모면적 비율의 증가가 관찰되었고, 生髮飲을 피부도포한 sample-I군은 81.7 $\pm$ 3.6%, sample-II군은 83.6 $\pm$ 2.2%로 역시 대조군에 비하여 유의성 있는 발모면적 비율의 증가를 나타내었다. MXD군과 sample-I, II군 간에는 발모면적 비율의 변화에 유의한 차이가 없었다.

실험동물의 조직표본 상에서 단위면적 당 총 모발 수 즉, 모발 밀도와 모발의 굵기에 따라 구분한 성모의 수 및 이의 비율을 측정한 결과, 생리식염수를 도포한 대조군의 단위면적 당 모발의 밀도는 37.3 $\pm$ 1.9개였고, 이 중 성모는 11.5 $\pm$ 1.5개로 성모의 비율이 30.8 $\pm$ 3.3%를 차지하였다. 이에 비하여 MXD

군은 단위면적 당 모발의 밀도는 51.5 $\pm$ 1.2개, 이 중 성모는 25.3 $\pm$ 1.9개로 성모의 비율이 49.1 $\pm$ 2.5%를 차지하여 모발의 밀도, 성모의 수 및 성모 비율 모두 대조군에 비하여 유의한 증가를 나타내었다. 生髮飲 30% 용액을 14일간 피부 도포한 sample-I군에서 단위면적 당 모발의 밀도는 48.2 $\pm$ 1.7개, 이 중 성모는 22.7 $\pm$ 2.1개로 성모의 비율은 47.1 $\pm$ 3.1%이었고, 生髮飲 100% 용액을 14일간 피부 도포한 sample-II군은 단위면적 당 모발의 밀도는 52.1 $\pm$ 1.5개, 이 중 성모는 24.8 $\pm$ 2.0개로 성모의 비율은 47.6 $\pm$ 2.8%를 차지하여 모두 대조군에 비하여 유의한 증가를 나타내었다. MXD군과 sample-I, II군 사이에는 모발밀도 및 성모비율에 유의한 차이는 없었다.

성장인자의 발현 변화를 알아보기 위해 피부조직에 면역조직화학염색을 시행하여 TGF- β 1 발현을 관찰한 결과 생리식염수를 도포한 대조군, 3% MXD를 도포한 MXD군, 生髮飲을 피부도포한 sample-I군과 sample-II군 모두에서 TGF- β 1의 발현을 관찰하기 어려웠다. 일부 굵기가 가는 솜털의 inner root sheath에서 TGF- β 1가 발현되는 것을 관찰할 수 있었으나 이 역시 MXD군, sample-I군 및 sample-II군 모두에서 큰 차이가 없었다. 이는 MXD과 生髮飲이 TGF- β 1 발현에 영향을 미치지 못하였거나 또는 발현을 억제한 결과로 추측되며, 이는 모발 성장에 유리한 결과로 해석할 수 있다.

EGF 발현을 관찰한 결과, 생리식염수를 도포한 대조군과 MXD군에서 모발의 굵기가 일정 수준 이상인 성모와 굵기가 가는 솜털의 모근 outer root sheath에서 약한 양성반응을 나타내었으며, inner root sheath에는 음성반응을 나타내었다. 이에 비하여 生髮飲을 피부도포한 sample-I군과 sample-II군에서는 전체적으로는 대조군 및 MXD군의 면역조직화학반응 양상과 큰 차이가 없었으나 일부 굵기가 일정 수준 이상인 성모의 outer root sheath에서는 EGF에 대하여 강한 양성반응을 나타내는 모근들이 관찰되어 生髮飲이 모근의 EGF 발현에 영향을 미쳐 육모를

촉진하는 작용이 있음을 추측할 수 있다.

生髮飲의 안전성을 알아보기 위해서 生髮飲 30% 용액을 건강한 토끼의 안점막에 점적한 다음 각막의 투명도와 염증반응 유무, 결막의 적열상태와 눈곱형성 유무 등을 관찰한 결과, 이상반응이 24시간 이후까지 관찰되지 않은 것으로 보아 生髮飲은 안점막을 과민자극하지 않는 것으로 관찰되었다.

이러한 결과를 종합해 검토해 본 결과 生髮飲을 피부 도포한 sample-I군과 sample-II군에서 MXD군과 유사한 발모효과가 나타났으며, 生髮飲 30% 용액을 적용한 sample-I군에서 100% 용액을 적용한 sample-II군에 비해 발모효과의 차이가 나타나지 않는 것으로 사료되며, 30% 농도에서도 충분한 발모효과를 나타내는 것으로 생각된다.

V. 결 론

生髮飲 30% 및 100% 용액으로 육모 촉진효과를 관찰하기 위하여 제모된 C57BL/6 마우스에 生髮飲을 14일간 피부도포한 다음 발모상태, 발모 면적 비율, 모발 밀도 및 성모 비율을 조직학적으로 관찰하였으며, 모낭에서의 TGF- β 1 및 EGF 발현을 면역조직화학염색을 통해 관찰하고, 안전성 확인을 위해 토끼 안점막에 대한 자극반응을 관찰하여 아래와 같은 결과를 얻었다.

1. 生髮飲의 피부도포는 3% MXD과 유사한 정도의 발모촉진 효능을 나타내었다.
 2. 발모면적이 비율에서는 피부도포군에서 대조군에 비하여 유의성 있는 증가를 나타내었다.
 3. 모발의 밀도, 성모의 수 및 성모 비율에서 피부도포군은 대조군에 비하여 유의성 있는 증가를 나타내었다.
 4. 모낭의 TGF- β 1 발현에 유의한 영향을 미치지 못하였다.
 5. 모낭의 EGF 발현을 유의하게 증가시켰다.
 6. 生髮飲 30% 용액은 토끼 안점막에 과민자극 반응을 나타내지 않았다.
- 이러한 결과들로 보아 生髮飲의 피부도포는 육모 촉진효과가 있는 것으로 관찰되었으며, 그 기전은 미녹시딜과 유사하며 모낭에서 TGF- β 1 발현을 억제하고 EGF 발현을 증가시키는 작용을 하는 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Rodney Dawber, Dominique Van Neste. 두피 모발질환. 서울: 군자출판사. 2005;1, 73.
2. 대한피부과학회 교과서 편찬위원회. 피부과학. 서울: 麗文閣. 2001;477-83.
3. Mitsui S, Ohuchi A, Hotta M, Tsuboi R and Ogawa H. Gene for a range of growth factors and cyclin-dependent kinase inhibitors are expressed by isolated human hair follicle. Br. J. Dermatol. 1997;137:693.
4. Inui S, Fukuzato Y, Nakajima T, Yoshikawa K, Itami S. Androgen-inducible TGF- β 1 from balding dermal papilla cells inhibits epithelial cell growth: a clue to understand paradoxical effects of androgen on human hair growth. FASEB J. 2002;16(14):1967-9.
5. Mak KK, Chan SY. Epidermal growth factor as a biologic switch in hair growth cycle. J Biol Chem. 2003;278(28):26120-6.
6. Messenger AG, Rundegren J. Minoxidil: mecha-

- nisms of action on hair growth. *Br J Dermatol*. 2004;150(2):186-94.
7. Schweikert HU, Wilson JD. Regulation of human hair growth by steroid hormones. I. Testosterone metabolism in isolated hairs. *J Clin Endocrinol Metab*. 1974;38(5):811-9.
8. Libecco JF, Bergfeld WF. Finasteride in the treatment of alopecia. *Expert Opin Pharmacother*. 2004 Apr;5(4):933-40.
9. Hoedemaker C, van Egmond S, Sinclair R. Treatment of female pattern hair loss with a combination of spironolactone and minoxidil. *Australas J Dermatol*. 2007;48(1):43-5.
10. Karyn S, Matthew B, Daniel LS. Common Hair Loss Disorders. *Am Fam Physic*. 2003;68(1):93-102.
11. 蔡炳允. 韓方外科. 서울: 高文社, 1971:285-6.
12. 巢元方. 諸病源候論. 서울: 大星文化社. 1992:197-200.
13. 越信. 聖濟總錄. 北京: 人民衛生出版社. 1987:1778-9.
14. 洪元植. 黃帝內經素問. 서울: 東洋醫學研究院 出版部. 1981:11,36,39,166.
15. 李庭. 醫學入門. 台北: 台聯國民出版社. 1982:442.
16. 洪元植. 黃帝內經靈樞. 서울: 東洋醫學研究院 出版部. 1981:274-6, 282-3.
17. 汪翬. 名醫類案. 廣業書局有限公司. 1968:196.
18. 임사비나, 최규동, 김수경. 탈모에 대한 동서의학적 고찰. *제한동의학술원논문집*. 1999;4(1):699-710.
19. Roh SS, Kim CD, Lee MH, Hwang SL, Rang MJ, Yoon YK. The hair growth promoting effect of *Sophora flavescens* extract and its molecular regulation. *J Dermatol Sci*. 2002;30(1):43-9.
20. Kwon OS, Han JH, Yoo HG, Chung JH, Cho KH, Eun HC, Kim KH. Human hair growth enhancement in vitro by green tea epigallocatechin-3-gallate (EGCG). *Phytomedicine*. 2006;6: Epub ahead of print.
21. Wu QY, Wu XJ, Lu ZF, Zheng M. Effects of traditional Chinese herbs on growth of mouse hair follicles and hair bulb cells in vitro. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2006 Jul;35(4):435-9.
22. Gao SP, Huang L, Yang XW. Effects of Huoxue Bushen Mixture on skin blood vessel neogenesis and vascular endothelial growth factor expression in hair follicle of C57BL/6 mice. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao*. 2007;5(2):170-3.
23. 이황희, 정미영, 김석주. 頭皮·毛髮管理 및 脫毛의 臨床的 治療. 서울:圖書出版 靑藍. 2005:125-78, 193-219.
24. Greenberg JH, Katz M. Treatment of androgenetic alopecia with a 7.5% herbal preparation. *J Dermatol Treat*. 1996;7:159-62.
25. Fenton DA, Wilkinson JD. Topical MXD in the treatment of alopecia areata. *Br Med J(Clin Res Ed)*. 1983;287(6398):1015-7.
26. Makridakis N, Reichardt JK. Pharmacogenetic analysis of human steroid 5 alpha reductase type II: comparison of finasteride and dutasteride. *J Mol Endocrinol*. 2005;34(3):617-23.
27. McClellan KJ, Markhan KJ. Finasteride: a review of its use in male pattern hair loss. *Drugs*. 1999;57(1):111-26.
28. Sidney G, Paulo AN, Ricardo S, Nelson RN, Jonathas BS, Andrea GG. FINASTERIDE-ASSOCIATED MALE INFERTILITY. *REV. HOSP. CLIN. FAC. MED. S. PAULO*. 2004;59(4):203-5.
29. Burton J, Marshall A. Hypertrichosis due to MXD. *Br. J. Dermatol*. 1979;101:593.
30. Rahimi-Ardabili B, Pourandarjani R, Habibollahi P, Mualeki A. Finasteride-induced depression : A prospective study. *BMC Clin Pharmacol*. 2006;6(1):7.
31. 孫思邈. 備急千金要方. 서울: 大星文化社. 1992:

- 434-45.
32. 陳實功. 外科正宗. 北京: 人民衛生出版社. 1983: 256-7, 268-9.
33. 薛輪. 醫宗金鑑. 台北: 大中國圖書公司. 1984:69-70.
34. 이희삼, 윤성중, 문유기, 문재유. 脫毛證에 對한 桑白皮 複合物的 毛髮成長效果. 한국잡사학회지. 2000;42(2):83-5.
35. 최웅, 최정화, 김종한. 數種의 韓藥材가 脫髮成長에 미치는 影響. 대한안이비인후과부과학회지. 2002; 15(2):80-103.
36. 노현찬. 苦蔘抽出物이 毛髮成長促進 및 面疱抑制에 미치는 影響. 대전대학교 대학원 박사학위 논문. 2002.
37. 신연상. 5種의 韓藥材抽出物이 脫毛防止와 毛髮成長促進에 미치는 實驗的 研究. 대전대학교 대학원 박사학위논문. 2003.
38. 김무영, 안봉진. 韓藥材 配合에 따른 脫毛防止 및 發毛促進에 關한 研究. 대한본초학회지. 2004; 19(2):9-20.
39. 박원석, 성대석, 김대권, 조원희, 이해광, 이창훈, 박성규, 심영철. 5種의 韓藥抽出物이 含有된 헤어 에센스제품이 in vitro 및 in vivo에서 育毛 및 脫毛 防止에 미치는 效果. 대한한의학회지. 2004; 25(1):152-60.
40. 김남권, 두인선, 문연자, 우원홍. 生毛根이 脫毛에 미치는 臨床的 研究. 동의생리병리학회지. 2005; 19(1):270-8.
41. 全國韓醫科大學 本草學教授 共編著. 本草學. 서울: 永林社. 1994:129-31, 151-2, 185-6, 289-90, 395-6, 405-6, 578-80, 618-9.
42. 吳謙. 醫宗金鑑. 北京: 人民衛生出版社. 1982:108-9.
43. 高本釗. 新編中藥大辭典. 臺北: 新文豐出版公司. 1983:843-7, 2200-4, 1700-2, 1368-70, 574-577, 309-12, 2369-73, 695-6.
44. Yoshikawa M, Shimada H, Matsuda H, Yamahara J, Murakami N. Bioactive constituents of Chinese natural medicines. I. New sesquiterpene ketones with vasorelaxant effect from Chinese moxa, the processed leaves of *Artemisia argyi* Levl. et Vant.: moxartenone and moxartenolide. Chem Pharm Bull (Tokyo). 1996 Sep;44(9):1656-62.
45. Zhong Y, Cui S. Effective chemical constituents of *Artemisia argyi* Levl. et Vant for inhibition of platelet aggregation. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 1992 Jun;17(6):353-4, 383.
45. 許俊. (對譯)東醫寶鑑. 서울: 法仁文化社. 1999:793, 795.
46. 오하식, 김형환, 안덕균, 최호영. 當歸類가 혈관 신생에 미치는 영향에 대한 비교연구. 대한본초학회지. 2001;16(2):19-27.
47. Jiang C, Lee HJ, Li GX, Guo J, Malewicz B, Zhao Y, Lee EO, Lee HJ, Lee JH, Kim MS, Kim SH, Lu J. Potent antiandrogen and androgen receptor activities of an *Angelica gigas*-containing herbal formulation: identification of decursin as a novel and active compound with implications for prevention and treatment of prostate cancer. Cancer Res. 2006 Jan 1;66(1): 453-63.
48. 陳存仁. 圖說漢方醫藥大事典(中國藥學大典). 서울: 圖書出版 松嶽. 1990:340-7.
49. Park WS, Lee CH, Lee BG, Chang IS. the extract of *Thuja occidentalis* semen inhibited 5 α -reductase and androchronogenetic alopecia of B6CBAF1/j hybrid mouse. J Dermatol Sci. 2003;31:91-8.
50. 김도원, 이정주, 이규석, 김지욱, 최종수, 김현철, 황성록, 윤인병. 탈모방지에 대한 고삼추출물 및 히노키티올 함유 제제의 임상효과. 대한피부과학회 제54차 춘계학술대회 초록집. 2002:163.
51. 李時珍. 本草綱目(校点本). 北京: 人民衛生出版社. 1995:846.

52. Ricci D, Giamperi L, Bucchini A, Fraternali D. Antioxidant activity of Punica granatum fruits. *Fitoterapia*. 2006;77(4):310-2.
53. Murthy KN, Reddy VK, Veigas JM, Murthy UD. Study on wound healing activity of Punica granatum peel. *J Med Food*. 2004 Summer;7(2): 256-9.
54. Buhl AE, Waldon DJ, Miller BF, Brunden MN. Difference in activity of MXD and cyclosporin A on hair growth in nude and normal mice. *Lab. Invest*. 1990;62:104.
55. Uno H, Allegra F, Adachi K, Montagna W. Studies of common baldness of the stump tailed macaque. I. Distribution of the hair follicles. *J. Invest. Dermatol*. 1967;49:288.
56. Takashima I. Studies of common baldness in the stump-tailed macaque. V. Regional difference of testosterone metabolites in the hair follicles. *J. Dermatol*. 1974;1:14.
57. Jahoda CA, Whitehouse J, Reynolds AJ, Hole N. Hair follicle dermal cells differentiate into adipogenic and osteogenic lineages. *Exp Dermatol*. 2003;12(6):849-59.
58. Randall, VA, Hibberts NA, Thornton MJ, Merrick AE, Hamada K, Kato S, Jenner TJ, Oliveira H and Messenger AG. Do androgens influence hair growth by altering the paracrine factors secreted by dermal papilla cells? *Eur. J. Dermatol*. 2001;11:315.
59. Takahashi T, Hamada C, Ishino A, Kobayashi K, Kimura T and Tajima M. The effect of active compound. Third International Meeting of Hair Research Society. Jun. 13-15. Japan. 2001:71.
60. Kobayashi N, Suzuki R, Koide C, Suzuki T, Matsuda H and Kubo M. Effect of leaves of Ginkgo biloba on hair regrowth in C3H strain mouse. *藥學誌*. 1993;113:718-24.
61. Kubo M, Matsuda H, Fukui M and Nakai Y. Development studies drugs from natural resources. I. Effects of crude drug extracts on hair growth in mice. *藥學誌*. 1988;108:971-8.
62. Uno H. Quantitative models for the study of hair growth in vivo. *Ann. NY Acad. Sci*. 1991; 642:107.
63. Yang JS, lavker RM, Sun TT. Upper hair follicle contains a subpopulation of keratinocytes with superior in vitro proliferative potential. *J. Invest. Dermatol*. 1993;652:101.
64. Philpott MP, Green MR, Kealey T. Human hair growth in vitro. *J. Cell Sci*. 1991;97:463.
65. Yamamoto S, Jiang H, Kato R. Stimulation of hair growth by topical application of FK506, a potent immunosuppressive agent. *J. Invest. Dermatol*. 1994;102:160.
66. Messenger AG. The control of hair growth and pigmentation, In : Disorders of Hair Growth (Elise A.O. et al. eds), McGraw-Hill, New York, 1994:39.
67. Chasw HB, Rauch R, Smith VW. Critical stages of hair development and pigmentation in the mouse. *Physiol. Zool*. 1951;24:1.
68. Tobin DJ, Hagen E, Botchkarev VA, Paus R. Do hair bulb melanocytes undergo apoptosis during hair follicle regression(catagen)? *J. Invest. Dermatol*. 1998;111:941.

