Lactobacillus plantarum 발효 식물추출물질(MBN)의 in vitro 및 in vivo 발모 효과

주 성 수*

강릉원주대학교 생명과학대학 생물약신소재교실

In vitro and In vivo Hair Growth Promotion Effects of Lactobacillus plantarum-Fermented Plant Extracts (MBN)

Seong Soo Joo*

Department of Marine Molecular Biotechnology, College of Life Science, Gangneung-Wonju National University

Abstract This study investigated the effect of herbal extracts fermented by *Lactobacillus plantarum* (MBN) on hair growth in C57BL/6 mice and HaCaT cells. Five week old mice were applied with MBN topically (0.2 mL) once per for 21 days. Hair regrowth was evaluated by gross examination and verified by hematoxylin-eosin staining. Gene expression of vascular endothelial growth factor (VEGF), keratinocyte growth factor (KGF), and transforming growth factor-beta1 (TGFβ1), relevant to hair growth, were examined. The data revealed that MBN successfully promoted hair growth in both male and female mice at a dose between 200-500 mg/kg and improved hair thickness. The VEGF and KGF genes were expressed in a dose-dependant manner, whereas TGFβ1 was not expressed. Moreover, nitric oxide was significantly increased, suggesting an improvement in blood flow. These results indicate that MBN effectively promoted hair growth and gene expression relevant to hair growth in an animal model.

Keywords: *Lactobacillus plantarum*, C57BL/6 mice, hair growth, nitric oxide, herbal extracts

서 론

모발은 머리보호, 외향에 대한 영향, 머리의 온도유지 등 인체에서 다양한 역할을 담당하고 있으며, 생명유지에 중요한 기관은 아니지만, 건강상태의 척도이자 외모를 결정짓는 신체의 중요한 일부분이다(1). 탈모가 일련의 노화현상으로 인식되어왔으나, 최근 여러 유전적인 요인과 함께 스트레스, 서구화된 식습관, 영양 불균형, 사회활동의 변화 등의 다양한 원인에 의해 탈모가 진행됨이 밝혀지고 있다(2,3). 모발의 형성은 주기적으로 순환하는 패턴을 가진다. 즉, 정상모발의 90%를 차지하는 성장기(anagen, growing phase), 성장정지와 모근이 위축되는 퇴행기(catagen, transitional phase), 모구가 건조되고 곧봉모가 되는 휴지기(telogen, resting phase), 그리고 탈락기(exogen) 등 4 단계의 모주기(hair cycle)을 거치면서 모발은 성장과 탈모를 거듭한다. 특히, 퇴행기 동안 많은 모낭이 세포사(apoptosis)가 진행되어 휴지기에 들어가면서 모낭의 크기가 줄어들게 된다(4). 이와 같은 발모촉진 또는 탈모억제에 대한 연구에는 모발 주기에 대한 개념이 적용되어 연구를 수행하여야 하는데, 이 때 고려되어야 할 사항이 모발 성장

촉진(VEGF, vascular endothelial growth factor; KGF, keratinocyte growth factor) 및 성장 억제(transforming growth factor-beta1, TGFβ1)와 같은 발모관련인자들이다(5). 탈모 중 가장 많이 진단되는 탈모증은 원형탈모증, 안드로젠성 탈모증, 휴지기 탈모증 등이 있으며, 이 중 안드로젠성 탈모가 발생빈도가 가장 높게 나타난다. 우리나라 총 인구의 300만 이상(남성: Norwood 분류 3형이상, 여성: Ludwig 분류 1형이상)이 안드로젠성 탈모증으로 추정되며, 이 증상은 사춘기 이후의 남성과 여성에서 발생하는 가장 흔한 유형의 탈모증으로 남성에게는 남성형 탈모증 또는 대머리, 여성에게는 여성형 탈모증으로 알려져 있다(6,7). 현재 모발성장 촉진제제로서 미녹시딜(minoxidil, 경피도포제) 및 피나스테리드(finasteride, 경구복용제) 등이 FDA 승인을 얻어 임상적으로 상용되고 있다. 특히 미녹시딜은 1970년 초에 혈관확장제로 최초로 소개되어 약물효과 이외의 부작용이 발모임이 밝혀져 현재 발모촉진제로 사용되고 있으며(8), 그의 작용기전은 현재까지 명확히 밝혀지지 않았으나, 여러 연구에서 혈관확장을 통한 영양 공급 촉진 및 potassium channel opening 효과 등이 모발 성장을 유도하는 것으로 생각되고 있다(4,9,10). 또한, 최근 임상적 적용이 증가하고 있는 피나스테리드제제는 남성호르몬 대사에 작용하는 효소인 5α-reductase의 활성을 억제시키는 물질로서 이 제제 또한 전립선 비대증 치료제 개발로부터 유래된 탈모 억제제로 사용되고 있다(11). 하지만 발모제의 임상사례로부터 약물 이상반응(미녹시딜-체중증가, 부종, 심강박동 증가, 협심증, 피부염, 가려움증 등; 피나스테리드-남성 성기능 장애, 기형아 출산 등)이 보고되고 있어 적극적 치료에 상당한 제한성을 가지고 있다(12,13). 이러한 단점을 보완하고 지속적 사용에도 안전한 천연

*Corresponding author: Seong Soo Joo, Department of Marine Molecular Biotechnology, College of Life Science, Gangneung-Wonju National University, Gangneung, Gangwon 210-702, Korea
Tel: 82-33-640-2856
Fax: 82-33-640-2340
E-mail: ssj66@gwnu.ac.kr
Received January 28, 2011; revised March 1, 2011;
accepted March 21, 2011

소재유래 물질의 개발이 다양하게 시도되고 있으며, 특히 식물유래 추출물의 연구가 활발히 수행되고 있다(14). 따라서 본 연구에서는 민간요법으로 두피건강 및 탈모에 유용한 소재로 알려진 생약초들(박하/지모/시호/지장수/창포/ 측백나무잎/쓴풀/검은콩/검은깨)을 열수 추출한 후 유산균에 발효시킨 2차 발효물질을 사용하여 모발성장 증대 및 탈모관련유전자 발현을 분석하여 유용한 탈모제제로서의 가능성을 입증하였다. 본 연구에 사용된 동물은 자발적 탈모가 진행되는 특징을 가진 C57BL/6 마우스 모델을 사용하여 탈모의 효능을(양성 대조군, 3% 미녹시딜) 육안적 관찰을 통하여 확인하였다.

재료 및 방법

실험물질

실험물질(MBN)은 70% 에탄올을 처리 후 건조시킨 검은콩, 검은깨, 박하, 지모, 시호, 지장수, 창포, 측백나무잎, 쓴풀을 사용하였으며 검은콩 50%, 기타생약초 50%(쓴풀; 25%, 창포; 5%, 시호; 2.5%, 지모; 2.5%, 측백; 2%, 검은깨 2%, 박하 2%, 기타 9%)의 비율이 되도록 하여 100°C에서 2시간 동안 열수추출하고 잡균의 제거를 위해 autoclave한 시료를 (주)한빛코리아로부터 제공 받았다. 열수추출물의 발효를 위해 *Lactobacillus plantarum*(10^7 CFU/mL)를 넣고 37°C에서 72시간 발효과정을 거친 후 5분간 끓여 세균활성 억제 및 추가 발효가 일어나지 않도록 하였다. 비교물질은 시판중인 3% Minoxidil(Minoxyl Soln, Hyun Dai Pharm, Seoul, Korea)과 용매대조물질(vehicle)로 0.9% 생리식염수를 사용하였다. 최종 사용물질은 착즙 및 원심분리 후 상층액을 동결 건조하여 연구에 사용하였다.

실험동물 및 군 분류

5주령 수컷과 암컷 C57BL/6 마우스를 (주)중앙실험동물로부터 구입하여, 사육실에서 1주간 순화기간을 거친 후 일반증상을 관찰하고, 체중을 측정하여 건강한 개체만을 선별하여 사용하였다. 실험기간 중의 실험동물은 격리용 마우스 케이지 당 5마리씩 수용하고, 사육실 환경조건은 실내온도 $23\pm 3^\circ\text{C}$, 상대습도 $55\pm 10\%$, 조명시간 12시간(오전 7시-오후 7시), 조도는 150-200 lux로 조절하였으며, 멸균 정제수와 실험동물용 사료를 자유로이 섭취하도록 하였다. 평가에 사용되는 시험군은 용매대조군(생리식염수), MBN 처리군(농도별 3군, 100, 200, 500 mg/kg body weight) 및 비교물질군(120 mg/kg)으로 분류하였으며, 군당 암, 수 각각 5마리씩 본 연구에 사용하였다(대조군(생리식염수, G1), 저용량군(100 mg/kg, G2), 중용량군(200 mg/kg, G3), 대용량군(500 mg/kg), 및 양성대조군(3% minoxidil, G5)).

실험물질 도포 및 체중측정

탈모효과를 관찰하기위해 전기제모기(electric clipper)를 사용하여 시료 도포 하루 전 마우스의 등 부위의 털을 제거한 후 제모제를 발라 완전한 제모를 하였다. 각 군별 요구 농도로 약 0.2 mL을 제모부위에 붓을 사용하여 고르게 도포하였고, 실험물질의 흡수를 확인 후 군별 분류를 하였다. 각 시험물질의 도포는 21일간 1회씩 매일 실시하였다. 체중측정은 시험물질 도포 전 및 도포 1일, 7일, 9일, 12일, 14일 및 21일에 같은 시각 오전(10:00)에 동일한 조건하에서 측정하였다.

발모면적 분석

암수 모두에서 실험 개시일로부터 실험물질 도포 1일, 7일, 9

일, 12일, 14일, 및 21일째에 실험동물을 pentobarbital로 마취시킨 후 발모의 정도를 육안 및 사진 촬영하여 관찰하였고, 각 군의 모발성장 효과는 각각의 동물을 육안적으로 관찰하여 발모 정도에 따라 0-19%(-), 20-39%(±), 40-59(+), 60-79(++), 80-100(+++)로 판정하였다.

조직학적 검사

시험개시 후 최종일에 실험물질 도포부위 중 발모가 왕성한 부위와 지연된 부위의 피부가 포함되도록 해부기를 이용하여 적출한 후 formalin으로 고정하였고, 일반적인 조직처리 과정에 따라 단계별로 alcohol과 xylene으로 탈수시킨 후 파라핀에 포매 하였다. 마이크로톰을 이용하여 5 µm의 조직절편을 만들고 hematoxylin-eosin으로 염색하여 광학현미경으로 모낭조직의 조직학적 변화를 관찰하였다.

세포독성 측정

MBN의 세포독성유무를 확인하기 위하여 lactate dehydrogenase (LDH) release assay(CytoTox 96 Kit, Promega, Madison, WI, USA)를 수행하였다. Human keratinocyte, HaCaT 세포주 1×10^5 cells/mL를 96-well plate에 분주하여 1, 10, 50, 100 µg/mL MBN 및 대조군으로서 0.5 mM H_2O_2 를 각각 처리하여 5% CO_2 incubator에서 24시간 동안 배양한 뒤 배양액을 새로운 96-well plate에 50 µL 분주하고, 동량의 LDH reagent를 50 µL씩 첨가하여 상온에서 30분간 반응시켰다. 반응 종료 후 stop solution 동량을 첨가하여 반응을 중지 시킨 후, ELISA reader를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Nitric oxide 측정

Nitric oxide(NO) 측정은 HaCaT 세포에 1, 10, 50, 100 µg/mL MBN 처리 후 24시간 내 배양액과 동량의 Griess reagent(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 혼합하여 microplate-ELISA reader (SpectraMax plus384, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)로 흡광도를 측정하였다. 즉, 96 well plate에 1×10^5 개의 HaCaT cell을 분주하여 confluence가 80%일 때, PBS로 2번 세척한 후에 무혈청 배지를 사용하여 24시간 반응을 시키고 각 군에서 취한 배양액에 동량의 Griess reagent를 첨가하여 10분간 반응시킨 후 490 nm에서 흡광도로 측정하였다.

Fig. 1. Average body weight (g) of C57BL/6 male and female mice. Body weights of each group were measured during topical application of vehicle (saline), minoxidil (3%) and MBN (100, 200, 500 mg/kg) at day 0, 1, 7, 9, 12, 14, 21.

역전사-중합연쇄반응(reverse transcription-polymerase chain reaction)

각 군의 1×10^7 /mL의 세포로부터 Trizol Reagent(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)를 이용하여 total RNA를 추출하였다. 즉, Trizol reagent 1 mL를 첨가하여 세포를 용해시키고 실온에서 5분 동안 방치 후 chloroform 200 μ L를 첨가하여 13,500 rpm에서

15분 동안 원심분리 하였다. 투명한 상층액(500 μ L)을 취하여 새로운 tube로 옮기고 동량의 isopropyl alcohol을 첨가한 후 13,500 rpm에서 10분 동안 원심분리하여 RNA를 침강시켰다. RNA pellet을 DEPC 처리한 증류수로 희석한 75 % EtOH 0.75 mL로 세척한 후 공기 중에서 건조시켜 reverse transcription sample로 사용하였다. First strand cDNA 합성은 추출된 total RNA 1 μ g을 사

Fig. 2. Comparison of hair regrowth in C57BL/6 male and female mice during topical application of minoxidil (3%), MBN (100, 200, 500 mg/kg) for 0, 7, 9, 12, 14, 21 days. MG1, vehicle; MG2, male 100, MG3; male 200, MG4; male 500, MG5; male minoxidil. FG1, female vehicle; FG2, female 100; FG3; female 200, FG4; female 500, FG5; female minoxidil.

Table 1. Comparison of hair regrowth in C57BL/6 mice

Days	Groups				
	FG1/MG1	FG2/MG2	FG3/MG3	FG4/MG4	FG5/MG5
7	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
9	-/-	/-	-/-	-/-	/
12	/-	+/	/-	+/-	++/+
14	+/	++/+	+++/-	+++/-	+++/-
21	+++/-	+++/-	+++/-	+++/-	+++/-

MBN was applied to the shaved dorsal skin of mice for 21 days (3 weeks), and hair growth was evaluated by the scoring index: 0-19% (-), 20-39% ($\pm$), 40-59% (+), 60-79% (++), 80-100% (+++). FG, female group; MG, male group. FG1/MG1, saline; FG2/MG2, 100 mg/kg; FG3/MG3, 200 mg/kg; FG4/MG4, 500 mg/kg; FG5/MG5, 3% minoxidil group.

용하여 수행되었고, Improm-II reverse transcription system (Promega, Madison, WI, USA)과 oligo dT primers를 사용하여 역전사 반응을 수행하였다. cDNA template을 대상으로 한 PCR 반응에 사용된 primer는 KGF (Forward: ggcaaaagtaaaaggaccca, Reverse: aaggcaacaacatttcccc), TGF- β 1(Forward: catcaacgggttcac-taccg, Reverse: aagttggcatggttagcctt), VEGF(Forward: caagggcag-cacataggaga, Reverse: gcaacgcgagtgtgtttt), GAPDH(Forward: ggagccaaaagggtcatcat, Reverse: gtgatggcaggactgtgtgt)이며 254, 258, 180 및 203 bp를 각각의 target size로 하였다. PCR 반응은 2X ReddyMix(ABgene, Epsom, Surrey, UK)를 이용하여, 다음과 같은 조건으로 총 30 cycle을 수행하였다; 94°C 30초(denaturation), 54-57°C 30초(annealing), 72°C 30초(extension), 72°C 10 분(final extension). 반응 총 용량은 20 μ L가 되도록 하였고 ethidium bromide로 염색된 1.2% agarose gel에서 전기영동 한 후 gel documentation system(MiniBIS Pro, Jerusalem, Israel)을 이용하여 비교 분석 하였다.

통계처리

결과분석은 GraphPad Prism 5.01 software를 이용하여 $p < 0.05$ 일 때 통계적 유의성(One-Way ANOVA)이 있음을 인정하였고, gel electrophoresis는 MiniBIS Pro GelDoc program을 통해 band intensity의 상대비교 분석을 실시하였다.

결과 및 고찰

수컷과 암컷 대조군 모두에서 각각 기간 동안 실험물질을 도포한 모든 마우스에서 특별한 이상 증상(physical sign)이 관찰되지 않았으나, 물질 도포 일주일째 MBN 고농도 군의 1개체에서 피부 상흔이 나타났다. 이 증상은 동일 군의 타 개체에서 나타나지 않았고 최종 투여일에 상처가 아물어 물질에 의한 직접적인 원인이 아닌 개체 간 접촉으로 인한 것으로 사료되었다. 또한 실험 중 모든 약물에 의한 치명적 독성이 관찰되지 않았고, 급격한 체중의 증가나 감소가 관찰되지 않아 약물에 의한 스트레스 등 이상반응이 없는 것으로 판단되었다(Fig. 1). 특히, "OECD" 단위 투여독성 시험법에서 제시하는 독성용량인 2,000 mg/kg(body weight)이내의 용량에서 사망 레가 없었으므로 MBN은 안전한 물질로 사료되었다.

각 군별 발모의 육안 및 조직염색 소견에서 수컷 마우스에서 제모 후 7일째부터 피부가 회색으로 변하기 시작하였고, 9일째부터는 부분 또는 전체적으로 푸른색으로 변하면서 피부 밖으로 털

Fig. 3. Representative histological observations in C57BL/6 female and male mice (hematoxyline & eosin staining). Dorsal skins were prepared to compare the changes of hair regrowth after 21 days of treatment of MBN (100, 200, 500 mg/kg) and minoxidil (3%). MG1, vehicle; MG2, male 100, MG3; male 200, MG4; male 500, MG5; male minoxidil. FG1, female vehicle; FG2, female 100; FG3; female 200, FG4; female 500, FG5; female minoxidil. Magnification X100.

이 자라는 것이 관찰되었다(Fig. 2). 이러한 발모의 정도를 비교했을 때(level scoring), 제모 후 7일째에 생리식염수만을 도포한 대조군에 비해 큰 차이는 발견되지 않았으나 9일째에는 MBN 처리군에서 다발 형상의 발모가 진행됨이 관찰되었다. 이와 같은 경향성은 12일 및 14일 제에서도 연속적으로 관찰되었으며 부검 당일인 21일째에는 제모된 전 부위에서 우수한 발모효과가 나타났다(Table 1). 고용량인 MG4(Male Group 4, 500 mg/kg)의 경우 MBN 처리 후 수일 간 고농도의 약물이 피부를 자극하는 소견을 보였으며, 초기 발모의 속도가 상대적으로 지연되는 등의 경향이 관찰되었으나, 실험 기간 동안 전체 발모에 큰 영향을 주지는 않을 것으로 사료되었다. 또한, 최종 부검일인 21일에 모발 분포도에서도 중용량인 MG3에 비해 모발의 면적이 상대적으로 고용량군에서 적게 나타나, 수컷의 경우 용량조절의 필요성이 있을 것으로 사료되었다. 양성 대조군인 minoxidil(MG5)에서도 피부 이상반응이 관찰되었으나 전체 발모에 영향을 주지는 않는 일시적 현상으로 생각되었다. H&E 염색에서 중용량인 200 mg/kg(MG3)에서 매우 우수한 결과가 나올 것으로 기대되었다. 흥미롭게도 MBN 처리군 모두에서 모근이 매우 튼튼하게 형성되고 있음이 관찰되었다(Fig. 3). 이는 minoxidil 처리군에 비해 현격한 차이가 관찰되었다. 이 결과로부터, 발모의 속도와 분포도는 minoxidil에서 우세하게 나타났으나(15), MBN 처리한 수컷에서 모근 형성이 매우 양호하게 진행됨이 관찰되어 발모 뿐 아니라 탈모 방지에 우수한 효능이 있을 것으로 사료되었다.

동시에 수행한 암컷 처리군에서 제모 후 7일째부터 피부가 회색으로 변하기 시작하였고, 9일째부터는 수컷 처리군보다 상대적으로 빠르게 부분 또는 전체적으로 푸른색으로 변하면서 피부 밖으로 털이 자라는 것이 관찰되었다(Fig. 2). 또한 12일째에는 제

Fig. 4. Cytotoxicity (LDH release) of MBN in HaCaT cells. HaCaT cells were treated with various concentrations of MBN (1, 10, 50, 100, 250 µg/mL) for 24 h, and the release of LDH from HaCaT cells was analyzed by measuring absorbance at 490 nm as described in Materials and Methods. Bars represent an average of three independent measures.

모한 전체 부분에서 발모가 되어 육안으로 발모의 흔적을 관찰할 수 있었으며 14일 이후 육안으로 정상적인 발모가 된 것이 관찰되었다. 수컷에서와 마찬가지로 minoxidil군에서 매우 빠르고 효과적으로 발모가 진행되는 것이 관찰되었으나 털의 굵기가 제모전보다 감소하는 것이 관찰되었다. 이러한 현상은 실험종료일까지 지속적으로 관찰되었다. 반면, MBN 처리한 암컷에서 제모전과 동등이상의 굵기를 실험종료일까지 유지하였다. H&E 염색 결과에서도 육안 관찰과 유사한 결과가 관찰되었으나, 암컷의 경우 중용량군(FG3)과 고용량군(FG4)에서 매우 우수한 효과가 나타나 용량선정에 유리할 것으로 사료되었다. 특히, 수컷의 조직 염색 결과와 마찬가지로 MBN 처리 시 모근이 매우 튼튼하게 형성됨이 관찰되었고, 이러한 결과는 minoxidil 처리 군과 비교 시 확연히 구분되었다(Fig. 3). 흥미롭게, 암컷의 경우 3% minoxidil에 비해 동등이상의 발모효과와 암컷에서 고용량 처리 시에도 피부 자극이 관찰되지 않는 안전성과 효능이 확인되었다.

또한, MBN에 의한 발모관련 유전자의 세포반응(cell responses)을 확인하기 위해 수행한 *in vitro* 실험에서 MBN의 세포독성이 100 µg/mL 내에서 관찰되지 않아(Fig. 4), 100 µg/mL 이내의 농도에서 발모관련 유전자 발현여부를 분석 하였다. 본 실험에서는 1, 10, 50 µg/mL의 용량에서 혈관의 생성을 유도해주는 물질인 VEGF 유전자 및 발모에 직간접적으로 영향을 주는 KGF와 TGFβ1 유전자 발현을 통해 MBN의 기전적 발모 효능을 확인하고자 하였다. 특히, KGF는 섬유아세포 성장인자 family의 member로서 모발 성장을 자극하는 인자이며, VEGF는 휴지기에 신생혈관 생성을 촉진시키는 인자로 작동하여 새로운 모발의 성장기로 유도하는 인자로 알려져 있다(16,17). 반면, TGFβ1은 모발의 퇴행기 전환 시 증가되는 인자로 상피세포의 증식을 억제하고 세포사를 유도하여 일반적으로 모발의 성장을 억제하는 쪽으로 작용하는 것으로 알려져 있다. 따라서 이와 같은 모발성장과 관련된 성장인자의 반응 여부를 관찰하여 MBN의 기전적 잠재성을 입증하고, 이들 성장인자의 mRNA 발현을 확인하여 동물실험에서 도출된 결과를 지지하는 기전적 배경을 확보하고자 하였다. 결과에서와 같이 MBN 처리 군에서 모발성장기에 기여를 하는 KGF와 VEGF의 mRNA가 다량 발현됨을 알 수 있었고, 모발성장억제와 관련이 있는 TGFβ1의 경우 mRNA 발현 증가가 관찰되지 않았다(Fig. 5). 이러한 결과로부터, MBN이 모발성장인자를 자극하고 혈관신생을 도와 발모에 유익한 환경을 만들어 주는 것으

Fig. 5. The effect of MBN on hair growth-related gene expression in HaCat cells. HaCaT cells were treated with various concentrations of MBN (1, 50, 100 µg/mL) for 24 h and gene expression relevant to hair growth was analyzed using conventional PCR machine (Biometra, Germany). GAPDH was compared as an internal standard.

Fig. 6. Total concentrations of nitric oxide from human keratinocyte, HaCat cells. HaCaT cells were treated with various concentrations of MBN (1, 10, 50, 100 µg/mL) for 24 h, and the release of NO from HaCaT cells was analyzed using Griess reagent. **, ***Significantly different from the corresponding control group at $p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively.

로 사료되며, human keratinocyte인 HaCaT 세포에서 MBN 처리 시 생성되는 NO가(Fig. 6) 혈류를 증가시키고, 혈관을 이완시켜 결국 발모를 자극하는 긍정적인 효과를 나타 낼 것으로 생각 된다(18,19). 결론적으로 생약 추출 발효물질인 MBN은 모발성장 촉진 및 탈모 예방제제의 개발 가능성이 높은 기능성 후보물질로 기대된다.

요 약

실험물질은 두피건강 및 발모에 유용한 소재를 혼합하여 열수 추출한 후 유산균에 발효시킨 2차 발효물질로서 고기능성이 예상되는 물질이다. C57BL/6 마우스의 등을 제모하고 실험물질을 처리하였을 때 암 수 모두에서 양성대조군인 minoxidil과 비교하였을 때 동등이상의 우수한 발모효과가 있음을 확인하였다. 특히 수컷의 경우 200 mg/kg 이하의 농도에서 우수한 효과가 관찰되었고 암컷에서는 고용량인 500 mg/kg까지 현저한 발모효과가 관찰되어 성별 처리 용량에 차이가 있는 것으로 사료되었다. 또한 양성대조군 minoxidil이 신속한 발모효과를 보이는 반면 털의 굵기가 감소하는 현상이 관찰되었으나 실험물질을 처리한 군에서는 제모전과 동등이상의 굵기를 유지하였다. 이러한 발모효과를 확인하기위해 모발성장관련 유전자 발현을 분석한 결과 실험물질이 KGF, VEGF 등의 모발성장촉진인자의 발현을 증가시키는 반면 탈모를 유도하는 TGFβ1의 발현에는 반응을 하지 않아 유

용한 발모제제로서의 가능성이 입증되었다. 더불어 실험물질에 의한 NO 분비가 두피의 혈류개선을 유도하여 탈모억제효능을 나타낼 것으로 사료되어 발효생약추출물인 MBN이 모발성장 및 탈모예방제제로의 개발이 가능 할 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 보건의료연구개발사업(A091121)의 지원에 의해 수행되었기에, 이에 감사드리며, 제반 연구 지원 및 물질제공에 협조해 주신 (주) 한빛코리아 김수남 사장님께 감사드립니다.

문 헌

1. Stenn KS. Molecular insights into the hair follicle and its pathology: A review of recent developments. *Int. J. Dermatol.* 42: 40-43 (2003)
2. Trüeb RM. Molecular mechanisms of androgenic alopecia. *Exp. Gerontol.* 37: 981-990 (2002)
3. Peters EMJ, Arck PC, Paus R. Hair growth inhibition by psychosocial stress: A mouse model for neural mechanisms in hair-growth control. *Exp. Dermatol.* 15: 1-13 (2006)
4. Buhl AE, Waldon DJ, Miller BF, Brunden MN. Differences in activity of minoxidil and cyclosporin A on hair growth in nude and normal mice. *Lab. Invest.* 62: 104-107 (1990)
5. Cotsarelis G, Millar SE. Towards a molecular understanding of hair loss and its treatment. *Trends Mol. Med.* 7: 293-301 (2001)
6. Olsen EA. Current and novel methods for assessing efficacy of hair growth promoters in pattern hair loss. *J. Am. Acad. Dermatol.* 48: 253-262 (2003)
7. Skalnaya MG, Tkahev VP. Trace elements content and hormonal profiles in women with androgenic alopecia. *J. Trace Elem. Med. Bio.* 24: in press (2010)
8. Messenger AG, Rundegren J. Minoxidil: Mechanisms of action on hair growth. *Brit. J. Dermatol.* 150: 186-194 (2004)
9. Burton JL, Marshall A. Hypertrichosis due to minoxidil. *Brit. J. Dermatol.* 101: 593-595 (1979)
10. Meissheri KD, Cipkus LA, Taylor CJ. Mechanism of action of minoxidil sulfate-induced vasodilation: A role for increased K⁺ permeability. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 245: 751-760 (1988)
11. Drake L, Hordinsky M, Fiedler V, Swinehart J, Unger WP, Cotterill PC, Thiboutot DM, Lowe N, Jacobson C, Whiting D, Stieglitz S, Kraus SJ, Griffin EI, Weiss D, Carrington P, Gencheff C, Cole GW, Pariser DM, Epstein ES, Tanaka W, Dallob A, Vandormael K, Geissler L, Waldstreicher J. The effects of finasteride on scalp skin and serum androgen levels in men with androgenetic alopecia. *J. Am. Acad. Dermatol.* 41: 550-554 (1999)
12. McClellan KJ, Markhan A. Finasteride: A review of its use in male pattern hair loss. *Drugs* 57: 111-126 (1999)
13. Hagemann T, Schlütter-Böhmer B, Allam JP, Bieber T, Novak N. Positive lymphocyte transformation test in a patient with allergic contact dermatitis of the scalp after short-term use of topical minoxidil solution. *Contact Dermatitis* 53: 53-55 (2005)
14. Rho SS, Park SJ, Hwang SL, Lee MH, Kim CD, Lee IH, Chang SY, Rang MJ. The hair growth promoting effect of Asiasari radix extract and its molecular regulation. *J. Dermatol. Sci.* 38: 89-97 (2005)
15. Buhl AE, Waldon DJ, Baker CA, Johnson GA. Minoxidil sulfate is the active metabolite that stimulates hair follicles. *J. Invest. Dermatol.* 95: 553-557 (1990)
16. Tsuboi R, Sa C, Kurita Y, Ron D, Rubin JS, Ogawa H. Keratinocyte growth factor (FGF-7) stimulates migration and plasminogen activator activity of normal human keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.* 1: 49-53 (1993)
17. Ozeki M, Tabata Y. *In vivo* promoted growth of mice hair follicles by the controlled release of growth factors. *Biomaterials* 24: 2387-2394 (2003)
18. Dulak J. Nutraceuticals as anti-angiogenic agents: Hopes and reality. *J. Physiol. Pharmacol.* 1: 51-67 (2005)
19. Boushel R. Metabolic control of muscle blood flow during exercise in humans. *Can. J. Appl. Physiol.* 28: 754-73 (2003)