

4주간 지구성 운동이 흰쥐의 Back Skin Hair Follicle에서 ERK 및 JNK의 활성화에 미치는 영향

김모경 · 박한수 · 신병철^{1*} · 조성초 · 채정룡 · 김모영²

군산대학교 자연과학대학원, 1: 원광대학교 한의과대학, 2: 전주대학교 행정대학원

Effects of 4 Weeks Endurance Exercise on Expression of Extracellular Signal-Regulated Kinases and c-Jun N-terminal Kinase in Rat Back Skin Hair Follicle

Mo Kyung Kim, Han Su Park, Byung Cheul Shin^{1*}, Sung Cho Jo, Jeong Ryong Chae, Mo Young Kim²

Graduate School of Physical Education, Kunsan National University, 1: College of Oriental Medicine, Wonkwang University, 2: Graduate School of Public Administration, Jeonju University,

The effect of a chronic programme of either low- or moderate-to-high-intensity treadmill running on the activation of the Extracellular-signal regulated protein kinase (ERK1/2), Phosphorylated ERK 1/2(pERK1/2) and the Phosphorylated c-Jun N-terminal kinase(pJNK) pathways was determined in rat Back skin Hair follicle. Sprague-Dawley rats were assigned to one of three groups: (i) sedentary group(NE; n=10); (ii) low-intensity exercise group (8m/min; LIE; n=10); and (iii) moderate-high-intensity exercise group(28m/min; HIE; n=10). The training regimens were planned so that animals covered the same distance and had similar utilization for both LIE and HIE exercise sessions. The report runs as follows; A single bout of LIE or HIE following 4 weeks of exercise led to a twofold increase in the phosphorylation of ERK2, pERK2 and a threefold increase in pJNK1, pERK1. ERK1 phosphorylation in LIE Back skin sampled and pJNK2 in HIE Back skin sampled 48h after the last exercise bout was similar to sedentary values, while pJNK2 phosphorylation in LIE Back skin sampled was 70-80% lower than sedentary. 48h after the last exercise bout of LIE or HIE increased ERK2, pERK1 and pJNK1 expression, with the magnitude of this increase being independent of prior exercise intensity or duration. pERK1/2,pJNK1 expression was increased Three- to fourfold in Back skin Hair follicle sampled 48h after the last exercise bout irrespective of the prior exercise programme, but ERK1 expression in HIE Back skin sampled was approximately 90% lower than sedentary values. In conclusion, exercise-training of different intensities/durations results in selective postexercise activation of intracellular signal pathways, which may be one mechanism regulating specific adaptations induced by diverse training programmes.

Key words : Exercise training, Back skin Hair follicle, Signal transduction, ERK, JNK

서론

세포는 다양한 외부자극에 반응하여 성장, 사멸, 세포형태의 진화 등을 하게 된다. 이러한 세포 반응이 핵으로 전달되기 위해서는 세포내 신호전달체계의 활성화에 의해 이루어지며 특히

* 교신저자 : 신병철, 전북 익산시 신용동 344-2 원광대학교 한방재활의학과

· E-mail : shinbc@wonkwang.ac.kr, · Tel : 063-850-2107

· 접수 : 2006/08/02 · 수정 : 2006/08/28 · 채택 : 2006/09/20

protein kinase의 활성화가 중요한 역할을 수행하며, 인산화키나아제가 핵의 전사인자(Nuclear Transcription factor)를 활성화시켜 DNA 전사가 일어나게 된다.

Extracellular signal-regulated kinase1/2(ERK1/2)는 세포내 신호전달체계인 mitogen-activated protein kinase(MAPK)의 집합체 중의 하나이다¹⁾.

MAPK는 serine/threonine 단백 키나아제로 ERK(Extracellular signal-regulated kinase), JNK(c-Jun N-terminal kinase), p38

kinases의 3종류가 있으며, 각각의 MAPK는 상위의 다른 활성화 원인에 반응하는 특이성을 갖고 있다^{2,3)}.

ERK는 주로 표피성장인자(EGF) 수용체에 의하여 활성화되고⁴⁾, TGF- α 의 발현과 관련이 있으며⁵⁾, ERK1/2 신호전달체계는 기계적 신장, 성장호르몬, 세포 스트레스, G단백결합 수용체 자극제, 허혈, 염증반응 등 다양한 자극에 의하여 활성화 된다^{2,6)}. 이러한 자극들은 GTP-결합단백질인 Ras (21kDa)를 인산화 시켜 활성화형인 pRas를 생성시키고 다시 pRas는 Raf와 함께 MAPK/ERK kinase(MEK)를 인산화 시켜 pMEK1/2 단백을 생성한다. 활성화형인 pMEK1/2 단백질에 의하여 ERK1/2가 인산화 형태인 pERK1/2 형태로 전환되며 pERK1/2단백은 다양한 세포기능들을 조절 한다¹⁾. 예를 들어 pERK1/2 단백질은 세포질 내에 phospholipase A2 효소 활성을 증가시켜 arachidonic acid의 유리 및 lysophospholipids의 생성을 증가시킨다. 또한 활성화형인 pERK1/2 단백질은 세포핵 안으로 전위되어 Elk1 단백을 인산화 시켜 c-fos 와 erg-1과 같은 immediate early gene의 전사를 조절 한다^{7,11)}.

JNK는 cell migration, transformation과 apoptosis와 같은 많은 세포의 반응을 조절하는데, diverse JNK에 의해 조절되는 반응은 세포형태^{12,13)}와 JNK isoform^{14,15)}에 특이적으로 나타난다. JNK-2 isoform 이 많은 종양세포의 transformation 을 조절하는 반면에, JNK-1활성이 PC12 세포¹⁶⁾와 U937 세포 등¹⁷⁾ 몇몇 세포 형태에서 apoptosis를 유도한다고 보고된 바 있다. 즉 pro-apoptotic (JNK-1)과 anti-apoptotic(ERK, JNK-2)의 균형이 cell death pathway 인지 survival pathway 인지를 결정하게 된다^{12,18)}. apoptosis에서 p38의 활성을 위한 역할은 최근에 보고되었다^{18,19)}.

뇌나 심장에서 산화성 스트레스에 반응하여 ERK1/2 신호체계의 활성화에 대한 많은 연구가 있으나 운동과 관련된 hair follicle에서의 ERK1/2와 JNK의 연구는 미미한 상태이다.

따라서 운동수행에 따른 extracellular signal-regulated kinases 수준의 변화에 대한 평가는 생리학 분야에서 매우 흥미로운 주제인데, hair follicle은 피부 내 구조물 중에서 신경섬유의 밀도가 가장 높게 분포되어 있는 기관이며²⁰⁾, 이러한 신경섬유로부터 유리되는 신경 펩타이드는 모발성장과 모발주기에 중요한 역할을 한다^{16,21)}. 또한 모발성장과 주기에 있어 다양한 성장인자와 세포고사 관련 분자들의 발현이 중요한 것으로 알려져 있다²²⁻²⁹⁾. 따라서 모낭에 대한 신경 펩타이드의 영향과 다양한 성장인자들의 발현에 대한 상관관계를 모낭과 모낭을 구성하는 세포수준에서 분석하는 일이 중요하리라 생각된다.

그러므로 본 연구는 4주간의 지구성 운동이 back skin Hair follicle 의 단백질의 질적 양적 변화와 성장에 밀접한 관계가 있으므로 운동의 강도와 효과에 따른 흰쥐 back skin Hair follicle 에서 ERK(extracellular signal-regulated kinases)와 JNK(c-Jun N-terminal kinase)의 발현을 관찰하고자 한다.

대상 및 방법

1. 실험 대상

본 연구의 실험동물은 220-230g의 체중을 가진 9주령 흰

Sprague-Dawley계 흰 쥐 수컷으로 의과대학 임상연구센터에서 특정병원체 부재 동물(SPF;specific pathogen free) 30마리를 분양 받아 사용하였다. 실험에 사용된 동물들은 신뢰성 있고 재현성 있는 결과를 얻기 위해 적합유무를 판별하여, 30마리를 분양 받기 전 미생물 모니터링과 유전적 모니터링을 받았다. 실험동물은 총 30마리를 대조 그룹, 저강도 운동그룹, 고강도 운동그룹의 3 그룹으로 구분하였다.

2. 훈련방법

실험동물은 1주간의 적응 훈련 후, 4주간의 본 훈련을 실시하였다. 지구성 운동은 동물실험용 트레드밀을 사용하여 저강도 운동그룹은 5°의 경사로 8m/min 속도, 30분씩 주 4회(월, 수, 금, 토)를 4주간 실시하였고, 점증적 고강도 운동그룹은 동물용 트레드밀을 이용하여 5°의 경사로 점증적으로 28m/min 속도 까지 20분씩 주 4회(월, 수, 금, 토)를 4주 동안 실시하였다.

3. 사육

본 실험동물의 사육은 의과대학 생리학교실 내 동물 사육실에서 이루어졌다. 동물 사육 실은 온도 22±2℃, 습도 45-55%, 조명은 실험동물의 야행성 성향을 고려하여 12시간씩 주/야로 조절되는 환경에서 이루어졌다. 케이지는 정규규격(33×23×12cm)을 사용하였고, 케이지마다 그룹별로 3~2마리씩 총12개를 사용하였으며, 정기적인 깔집 교체, 무균음료 및 멸균사료를 사용하였다. 체중은 CAS社의 Computing scale 체중계를 사용하여 매주 일정한 시간에 측정하였으며, 식이섭취에 의한 체중변화를 막기 위해 체중측정 1시간 전에 사료와 음료의 섭취를 제한하였다. 본 실험의 효과를 위해 본 실험48시간 전에 훈련을 중단하였다.

4. Western blot분석

모든 실험동물은 해부 전 48시간 전에 운동을 중단하였으며, 마취된 실험동물은 해부 판에 사지를 고정시키고, 조직 채취를 위한 Back skin의 털을 클리퍼로 제거하고 털이 제거된 Back skin에 알코올 소독한 다음, 조직을 분리하여 액화질소-196으로 냉동시키고 -70℃ 냉동고에 보관하였다. Back skin에서 단백을 분리하기 위하여 조직을 액화질소와 분쇄기를 이용하여 분말로 만들었다. Back skin분말을 1:5 weight/volume으로 조직분해완충용액(20 mM Tris-HCl pH 8.0, 1% NP-40, 150 mM EDTA, 10% glycerol, 0.1% beta-mercaptoethanol, 0.5 mM DTT)에 희석하여 얼음에 1시간 이상 방치하였다. 4℃에서 15분간 12,000×g으로 원심 분리하여 상층 액의 단백을 채취하였다. 이후 Bradford 법을 이용하여 spectrophotometer(Beckman Co., USA)에서 단백농도를 정량하였다.

단백의 전기영동은 sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE)를 시행하였다. 단백질 sample buffer(0.125 M Tris pH 6.8, 2% SDS, 25% glycerol, bromophenol blue, 2-mercaptoethanol)를 섞어 100℃에서 진탕 후 조직완충액에 섞인 단백질(80 μ g)을 12%와 15%의 gradient gel 에 전기영동 하였다. 전기영동은 mini gel 전기영동장치(SE 600

Hoefer Sci. Ins)를 이용하였고 90 V의 전압을 가하여 2시간 동안 진행하였다. 전기영동 후 gel을 Coomassie brilliant blue R-250으로 1시간 동안 염색시키고, 탈 염색액(10% acetic acid & 10% methanol)으로 탈색시켜 gel 상에서 단백 띠를 확인하였다.

단백이동장치(Hoefer Semiphor, Phamacia Bio.USA)를 이용하여 120 mA에서 2시간동안 gel의 단백을 0.45 μm의 polyvinylidene difluoride(PVDF)막 (Millipore Co., USA)으로 옮겼다. 이 PVDF막을 일차항체의 비 특이적 결합을 차단하기 위하여 Tris buffer saline(TBS)(pH 7.6)에 3% bovine serum albumin을 녹인 차단 완충액(blocking buffer)에 넣어 1시간 동안 반응시켰다. 여기에 일차항체인 pERK1/2(1:500)(Cell Signaling Technology, USA)를 4℃에서 하룻밤동안 반응시킨 후 0.05% Tween-20-TBS(TBST)로 3회 세척하였다. 이 후 이차항체인 goat rabbit IgG conjugated AP(Santa Cruz, USA)를 1:2,000으로 희석하여 1시간 동안 반응시켰다. TBST로 2회 세척 후 alkaline phosphates 용액(0.1 M Tris, 0.1 M NaCl, 0.01 M MgCl₂)에 세척하고 여기에 NBT와 BCIP를 넣어 발색시켰다.

또한 동일 조건에서 pERK1/2의 대조실험으로 비활성형인 ERK1/2 단백 발현을 관찰하였다.

Western blot 법에 의하여 관찰된 활성화형 단백(pERK1/2)의 발현정도를 분석하기 위하여 scanner(HP4P)를 이용하여 PVDF 막에 발색된 단백질의 양상을 디지털 영상화하여 개인용 컴퓨터에 저장하였다. 화상분석프로그램(UN-SCAN-IT gel, USA)을 이용하여 각 발현 단백질의 면적과 밀도를 측정하고 면적과 밀도를 곱하여 각 단백질의 용적(volume)값을 산출하였다. 각각 활성화형 단백질의 발현은 ERK1/2의 값과 비교 환산하여 최종 발현량으로 정의하였다. 그리고 각 실험 조건하에서 이들 활성화형의 발현량을 대조군의 활성화형의 발현량을 기준으로 상대적 발현 비를 산출하였다. pERK1/2 단백질에 대한 Western blot 검사 상 분자량이 44 kDa에서 pERK1 단백질이, 42 kDa에서 pERK2 단백질으로 각각 분리되었으며, pJNK1/2 단백질에 대한 Western blot 검사 상 분자량이 57 kDa에서 단백질이, 46.5 kDa에서 pJNK2 단백질로 각각 분리되었다.

5. 통계분석

실험결과는 평균(mean) ± 표준편차(S.D.)로 나타내었으며 실험 그룹 간의 통계 처리는 Kruskal-Wallis test를 이용하였다. p값이 0.05 미만인 경우에만 통계적 유의성이 있는 것으로 간주하였으며, SPSS version 10.0으로 처리하였다.

결 과

Fig. 1. ERK1은 저강도 운동 그룹에서 다소 높게 나타났고 고강도 운동 그룹에서는 저하되어 나타났다. ERK2는 대조그룹에 비해 저강도 운동그룹이나 고강도 운동그룹이 높게 나타나 차이를 보였다. ERK1의 발현이 대조 그룹과 비교하여 각각 1±0.01, 저강도 운동그룹이 1±0.11, 고강도 운동그룹이 0.9±0.08로 나타났고, 고강도 운동그룹에서 약간의 감소경향이 있는 것으로 관찰되었다. ERK2는 대조그룹과 비교하여 각각 저강도 운동그룹 1.1±0.1,

고강도 운동그룹1.2±0.11로 증가하는 것으로 나타났다.

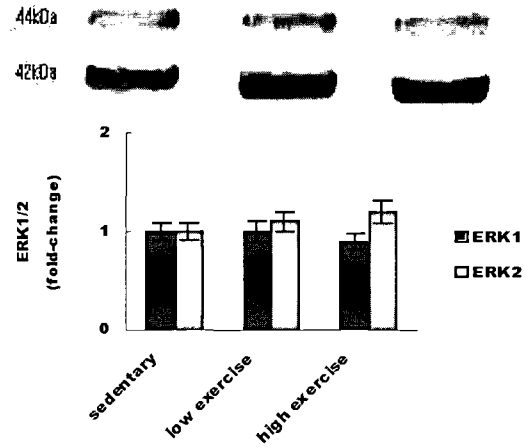


Fig. 1. Effect of exercise on extracellular signal regulated kinase(ERK)1/2 protein expressing un rat back skin, along with representative immunoblot. NE, sedentary, LIE, low-intensity exercise (8 m/min); HIE moderate-to-high-intensity exercise(28 m/min). Back skin was obtained 48h after the last exercise bout. All data were normalized against the corresponding sedentary value.

Fig. 2. pERK1은 대조그룹에 비해서 각각 저강도 운동그룹에서는 1.4±0.13으로 증가하였고, 고강도 운동그룹에서는 1.6±0.14 증가된 것으로 나타났다. pERK2는 대조 그룹에 비해 저강도 운동그룹에서는 1.1±0.12로 약간의 증가를 보였고, 고강도 운동그룹에서는 1±0.11로 나타나 대조 그룹과 같은 양상을 보였다. p는 ERK1은 대조 그룹보다 운동 강도에 비례하여 증가된 양상으로 나타났으며, pERK2는 운동 강도와 비례하진 않았으나 저강도 운동그룹에서 높게 발현되었다.

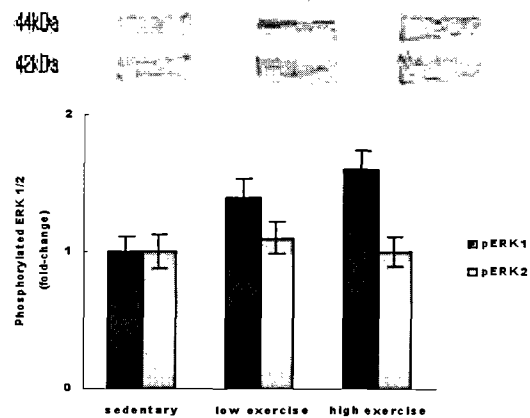


Fig. 2. Effect of exercise on phosphorylation of extracellular signal regulated kinase(ERK)1/2 protein expressing un rat back skin, along with representative immunoblot. NE, sedentary, LIE, low-intensity exercise (8 m/min); HIE moderate-to-high-intensity exercise(28 m/min). Back skin was obtained 48h after the last exercise bout. All data were normalized against the corresponding sedentary value.

Fig. 3. pJNK1은 대조 그룹에 비해 저강도 운동그룹과 고강도 운동그룹에서 각각 저강도 운동그룹 1.8±0.12, 고강도 운동그룹 2±0.18 로 나타나 유의하게 증가를 보였고 저강도 운동그룹보다 고강도 운동그룹에서도 증가하는 양상을 보였다. pJNK1은 운

동 강도에 비례하여 증가하는 양상을 보였으며, pJNK2에서는 대조그룹에 비해 저강도 운동그룹은 0.4 ± 0.05 으로 감소하는 경향을 보였으며, 고강도 운동그룹은 1 ± 0.12 로 대조그룹과 비슷한 발현양상을 보였다. pJNK2는 대조그룹에 비해 운동 강도와 비례한 결과를 가져오진 않았다.

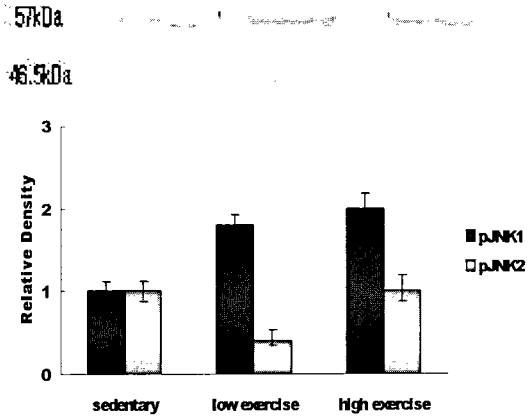


Fig. 3. Effect of exercise on phosphorylation of c-Jun N-terminal kinase(pJNK) protein expressing un rat back skin, along with representative immunoblot. NE, sedentary, LIT, low-intensity exercise (8 m/min); HIE moderate-to-high-intensity exercise(28 m/min). Back skin was obtained 48h after the last exercise bout. All data were normalized against the corresponding sedentary value * $(P < 0.05)$ NE; + $(P < 0.05)$ compared with exercise.

고찰

세포의 외부 신호가 세포의 핵으로 전달되기 위해서는 일련의 단백질 키나아제(활성효소)반응이 필요하며, 인산화로 활성화된 일련의 단백질 키나아제(활성효소)반응이 필요하다 인산화키나아제가 핵의 전사인자(nuclear transcription factor)를 활성화 시켜 DNA전사가 일어나게 된다^{2,6)}.

일련의 단백질 키나아제를 포함하는 MAPK(mitogen-activated protein kinase)는 세포에 가해지는 cytokine, 성장호르몬, T세포 항원 그리고 세포 스트레스 등의 외부 신호에 의하여 활성화되고, 다양한 세포 반응을 조절하는 것으로 알려져 있다.

MAPK에서 ERK는 주로 표피성장인자(EGF)에 의하여 활성화되고⁴⁾, 세포내의 다른 신호전달 체계에 관여하기도 하며, Takahashi 등³⁰⁾은 정상표피에서 ERK는 주로 기저층에 발현되고 JNK는 상부 유극층과 과립층에서 발현되며, JNK는 cystatin A 발현을 유발하는 반면 ERK는 cystatin A 발현을 억제한다고 주장하였다. 그러나 이어서 Takahashi 등³¹⁾은 cystatin A 발현을 억제하는 ERK도 건선 표피의 기저층과 유극층에서 증가되는 것으로 보고하였는데 이는 JNK에 대한 결과와 상반되는 결과로 생각되었다. Albanell 등은 ERK는 표피성장인자, 신경 성장인자, 혈소판유도성장인자에 의하여 유도되고, ras, raf-1, MEK에 의해서 활성화 된다고 하였다⁹⁾. 이러한 ERK는 세포의 전사를 조절하여 세포 증식과 생존에 관여하는 것으로 보고되었다⁹⁾. 또한 ERK의 발현은 표피성장인자 수용체와 TGF- α 의 발현과 관련이 있다고 보고하였다³²⁾.

본 연구에서는 정상세포에서의 ERK의 활성화를 운동으로

인한 Back skin에서 발현양상을 살펴보았으며, 스트레스를 배제한 순수 상태로 보기위해 최종 운동종료 48시간 후에 조직을 채취 해 성장과 세포증식에 관여하는 ERK의 발현양상을 살펴보았다. 그 결과 ERK1 보다 ERK2가 고강도 운동그룹에서 더 많이 발현되어 운동의 강도와 상관관계가 있는 것으로 보였다. 또한 pERK1이 대조그룹과 저강도 운동그룹보다 고강도 운동그룹에서 유의한 차이를 보여 강도별 운동의 효과에 대한 더 많은 연구가 있어야 할 것으로 사료된다.

JNK는 열 충격(heat shock), 염증성 cytokines, 삼투불균형(osmotic imbalance), 자외선 조사 등의 세포 스트레스에 의하여 활성화되며²⁾, 세포의 증식^{33,34)}, 분화^{35,36)} Apoptosis^{18,37,38)}에 관여하는 것으로 알려져 있다. 사람에서는 JNK-1과 JNK-2의 두 종류가 있고, JNK-2가 JNK-1보다 c-Jun에 25배 더 강한 친화력과 활성도를 보인다³³⁾. 본 연구에서 운동과 관련된 Back Skin Hair follicle에서의 JNK는 스트레스를 배제한 순수 상태로 보기위해 최종 운동종료 48시간 후에 조직을 채취 해 실험한 결과, 운동 강도가 흰쥐 Back Skin Hair follicle의 JNK에 관련 있음을 알 수 있었다. 선행 연구들에서 JNK가 세포사멸에 관여한다는 보고가 있으며^{18,37,38)}, 표피에서도 JNK가 이상각화증을 보이는 세포나 과립 층에서 주로 발현되어 세포사멸과 관련이 있음을 시사하였다.

특히, JNK의 발현은 염증, 세포 스트레스에 관여하는 것으로 보고되어 본 연구에서 운동 강도를 통한 Back Skin Hair follicle에서의 JNK 발현양상을 비교하였다. pJNK1은 대조그룹보다 운동 강도에 의존하여 증가하는 발현 양상을 보였으나, pJNK2는 NE 그룹보다 저강도 운동그룹에서 더 낮게 발현되었고, 고강도 운동 그룹에서는 대조그룹과 비슷한 양상을 보였다. 운동의 강도를 통해 본 JNK1, JNK2의 발현은 강도별 운동과 관련이 있을 것으로 생각되었으며, JNK가 pJNK2에서는 세포의 비정상적인 분화 보다는 세포의 증식과 관련이 있을 것으로 생각되었다. 장기간에 걸친 운동의 효과로 정상세포에서의 ERK, JNK의 발현 양상을 눈 여겨 보아야 할 것으로 사료된다.

결론

운동수행에 따른 extracellular signal-regulated kinases 수준의 변화에 대한 평가는 생리학 분야에서 매우 흥미로운 주제이며, 모발성장과 주기에 있어 다양한 성장인자와 세포고사 관련 분자들의 발현이 중요하다. Hair follicle에 대한 신경 펩타이드의 영향과 다양한 성장인자들의 발현에 대한 상관관계를 Hair follicle과 Hair follicle을 구성하는 세포수준에서 분석하기 위해 장기간의 운동 프로그램을 각 저 강도 와 조절된 고강도 트레드밀 달리기예 의한 ERK1/2 와 p ERK1/2 그리고 pJNK1/2의 신호전달과정을 흰쥐 pJNK2에서 결정지어왔다.

스프라귀 다울리게 흰쥐는 세 그룹으로 나뉘었다: 1) 대조그룹(10마리) 2) 저강도 운동그룹 (분당8미터 속도의 10마리) 3) 조절된 고강도 운동그룹 (분당28미터속도의 10마리). 운동 처방은 동물들의 저 강도 운동과 고강도 운동 기간 동안 비슷한 거리로 계획하였다. 결과는 다음과 같다.

4주간의 운동 후 최종 운동을 마친 48시간 후 저강도운동그룹과 조절된 고강도 운동그룹은 ERK2, pERK2 활성화가 2배 증가하였고 pJNK1, pERK1의 활성화는 3배 증가하였고, ERK1 활성화는 LIE Back skin 샘플에서 그리고 pJNK2활성화는 HIE Back Skin 샘플에서 대조그룹과 비슷한 양상을 보였으나, pJNK2의 활성화는 LIE Back Skin 샘플에서 대조그룹에서 보다 70~80% 적은 발현을 보였다. 운동이 끝난 48시간 후 ERK2와 pERK1, pJNK1은 운동 강도와 운동 기간에 의존하여 증가하는 발현 양상을 보였다. 운동이 끝난 48시간 후 pERK1/2, pJNK1은 훈련 프로그램에 상관없이 대조그룹에 비해 3~4배의 발현 양을 보였으나, ERK1의 활성화는 HIE Back Skin 샘플에서 대조그룹의 발현 양보다 적은 90% 정도의 발현을 보였다.

결론적으로, 운동 강도와 운동기간의 차이는 운동 후 세포내 신호 전달 과정의 활성화 차이를 가져오며, 그것은 아마도 다양한 운동 프로그램에 의해 야기된 세포내 명확한 적응 조절 기전일 것이다

참고문헌

1. Seger, R., Krebs, E.G. The MAPK signaling cascade. *FASEB J* 9: 726, 1995.
2. Petrazzulo, M., Goldsmith, L.A. Molecular mechanisms of cell signaling, In: Fitzpatrick, T.B., Eisen, A.Z., Wolff, K., Freedberg, I.M., et al. *Dermatology in General Medicine*. 5th ed. New York: McGraw-Hill, pp 114-131, 1999.
3. Cano, E., Mahadevan, L.C. Parallel signal processing among mammalian MARKs. *Trends Biochem Sci*. 20: 117-122, 1995.
4. Assefa, Z., Garmyn, M., Bouillon, R., Merlevede, W., et al. Differential stimulation of ERK and JNK activities by ultraviolet B irradiation and epidermal growth factor in human keratinocytes. *J Invest Dermatol*. 108: 886-891, 1997.
5. Albanell, J., Codony-Servat, J., Rojo, F., Campo, J.M., Sauleda, S., Anido, J., et al. Activated extracellular signal-regulated kinases: Association with epidermal growth factor receptor/transforming growth factor α expression in head and neck squamous carcinoma and inhibition by anti-epidermal growth factor receptor treatments. *Cancer Res* 59: 6500-6510, 1999.
6. Geilen, C.C., Wieprecht, M., Prfanos, C.E. The mitogen-activated protein kinases system (MAP kinase cascade): its role in skin signal transduction. A review. *J Dermatol Sci*. 12: 255-262, 1996.
7. Chen, R.H., Sarnecki, C., Blenis, J. Nuclear localization and regulation of erk-and-rsk-encoded protein kinases. *Mol Cell Biol*. 12: 915-27, 1992.
8. Gille, H., Kortenjann, M., Thomae, O., Moomaw, C., Slaughter, C., Cobb, M.H., Shaw, P.E. ERK phosphorylation potentiates Elk-1-mediated ternary complex formation and transactivation. *EMBO J*, 14: 951-962, 1995.
9. Zinck, R., Cahill, M.A., Kracht, M., Sachsenmaier, C., Hippskind, R.A., Nordheim, A. Protein synthesis inhibitors reveal differential regulation of mitogen-activated protein kinase stress-activated protein kinase pathways that converge on Elk-1. *Mol Cell Biol*. 15: 4930-4939, 1995.
10. Sgambato, V., Vanhoutte, P., Pages, C., Rogaed, M., Hippskind, R., Besson, M.J., Caboche, J. In vivo expression and regulation of Elk-1, a target of the extracellular-regulated kinase signaling pathway, in the adult rat brain. *J Neurosci*. 18: 214-226, 1998.
11. Vanhoutte, P., Barnier, J.V., Guibert, B., Pages, C., Besson, M.J., Hippskind, R.A. Glutamate induces phosphorylation of Elk-1 and CREB, along with d-fos activation, via an extracellular signal-regulated kinase-dependent pathway in brain slices. *Mol Cell Biol*, 19: 136-146, 1999.
12. Ruitter, G.A., Zerp, S.F., Bartelink, H., van Blitterswijk, W.J., Verheij, M. Alkyl-lysophospholipids activate the SAPK/JNK pathway and enhance radiation-induced apoptosis. *Cancer Res*;59,10: 2457-2463, 1999.
13. Schwenger, P., Alpert, C., Skolnik, E.Y., Vilcek, J. Cell-type-specific activation of c-Jun N-terminal kinase by salicylates. *J Cell Physiol* 179: 109-114, 1999.
14. Burrefield, L., Storey, B., Mass, L., Heasley, L.E. c-Jun N-terminal kinase regulation in small cell lung cancer cells to ultraviolet radiation. *J Biol Chem* 272, 10110-10116, 1997.
15. Zhang, P., Hogan, E.L., Bhat, N.R. Activation of JNK/SAPK in primary glial cultures: II Differential activation of kinase isoforms corresponds to their differential expression. *Neurochem Res* 23: 219-225, 1998.
16. 손인림, 이원수. 인체모낭기관배양에서 substance P가 모발 성장에 미치는 영향. *대한피부과학회지* 39: 190-198, 2001.
17. Seiniya, H., Mashima, T., Toho, M., Tsuruo, T. c-Jun N-terminal kinase-mediated activation of interleukin-1 β converting enzyme/CED-3-like protease dirong anticancer. *J Biol Chem* 272: 4631-4636, 1997.
18. Xia, Z., Dickens, M., Raingeaud, J., Davis, R., Greenberg, M.E. Opposing effects of ERK and JNK-p38 MAP kinases on apoptosis. *Science* 270: 1326-1331, 1995.
19. Ortiz, M.A., Lopez-hernandez, F.J., Bayon, Y., Pfahl, M., Piedrafita, F.J. Retinoid-related molecules induce cytochrome c release and apoptosis through activation of c-Jun N-terminal kinase/p38 mitogen-activated protein kinases. *Cancer Res* 61: 8504-8512, 2001.
20. Winkelmann, R.K. Cutaneous sensory nerves. *Semin Dermatopathol* pp 236-268, 1988.
21. Lee, W.S., Sohn, I.B. Substance P prolongs human hair growth in vitro. *J Dermatol Sci* 33: 137-138, 2003.

22. Mitsui, S., Ohuchi, A., Hotta, M., Tsuboi, R., Ogawa, H. Genes for a range of growth factors and cyclin-dependent kinase inhibitors are expressed by isolated human hair follicles. *Br J Dermatol* 137: 693-698, 1997.
23. Soma, T., Ogo, M., Suzuri, K., Takahashi, T., Hibino, T. Analysis of apoptotic cell death in human hair follicles in vivo and in vitro. *J Invest Dermatol* 111:948-954, 1998.
24. Werner, S., Smola, H., Liao, X., Longaker, M.T., Krieg, T., Hofschneider, P.H., Williams, L.T. The function of KGF in morphogenesis of epithelium and reepithelialization of wounds. *Science* 266: 819-822, 1994.
25. Itami, S., Kurata, S., Takayasu, S. Androgen induction of follicular epithelial cell growth is mediated via insulin-like growth factor-1 from dermal papilla cells. *Biochem Biophys Res Commun* 212: 988-994, 1995.
26. Lachgar, S., Charveron, M., Sarraute, K., Gall, Y., Bonafe, J.L. Antiandrogens and estrogens: modulators of VEGF expression in cultured hair dermal papilla cells. *Exp Dermatol* 8: 336-338, 1999.
27. Hoffmann, R., Happle, R. Does interleukin-1 induce hair loss? *Dermatology* 191: 273-275, 1995.
28. Hamada, K., Hirotsu, S., Uchiwa, H., Yamazaki, S., Suzuki, K. Proinflammatory cytokine interleukin-1 α is downregulated during anagen phase of hair cycle in vivo. *J Dermatol Sci* 33: 195-198, 2003.
29. Hoffmann, R., Eicheler, W., Wenzel, E., Happle, R. Interleukin-1 β -induced inhibition of hair growth in vitro is mediated by cyclic AMP. *J Invest Dermatol* 108: 40-42, 1997.
30. Takahashi, H., Honma, M., Ishida-Yamamoto, A., Namikawa, K., et al. Expression of human cystatin A by keratinocytes is positively regulated via the Ras/MEKK1/MKK7/JNK signal transduction pathway but negatively regulated via the Ras/Raf-1/MEK1/ERK pathway. *J Biol Chem* 276(39):36632-36638, 2001.
31. Takagashi, H., Ibe, M., Nakamura, S., Ishida-Yamamoto, A., et al. Extracellular regulated kinase and c-Jun N-terminal kinase are activated in psoriatic involved epidermis. *J Dermatol Sci* 30: 94-99, 2002.
32. Elder, J.T., Fisher, G.J., Lindquist, P.B., Bennett, G.L., et al. Overexpression of transforming growth factor α in psoriatic epidermis. *Science* 243: 811-814, 1989.
33. Bost, F., McKay, R., Bost, M., Potapova, O., et al. The Jun Kinase 2 isoform is preferentially required for epidermal growth factor-induced transformation of human A549 lung carcinoma cells. *Mol Cell Biol* 19: 1938-1949, 1999.
34. Derjard, B., Hibi, M., Wu, I.H., Barrett, T., Su, B., Deng, T., et al. JNK1: A protein kinase stimulated by UV light and Ha-Ras that binds and phosphorylates the c-Jun activation domain. *Cell* 76: 1025-1037, 1994.
35. Sayama, K., Hanakawa, Y., Shirakata, Y., Yamasaki, K., et al. Apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1) is an intracellular inducer of keratinocyte differentiation. *J Biol Chem* 276: 999-1004, 2001.
36. Santos, M., Perez, P., Segrelles, C., Ruoz, S., et al. Impaired NF-kappa B activation and increased production of tumor necrosis factor alpha in transgenic mice expressing keratin K10 in the basal layer of the epidermis. *J Biol Chem* 278: 13422-13430, 2003.
37. Chen, Y.R., Meyer, C.F., Tan, T.H. Persistent activation of c-Jun N-terminal kinase 1(JNK1) in gamma radiation-induced apoptosis. *J Biol Chem* 271: 631-634, 1996.
38. Fuchs, S.Y., Adler, V., Pincus, M.R., Ronai, Z. MAKK1/JNK signaling stabilizes and activates p53. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 10541-10546, 1998.