

半夏抽出物이 자발적 원형탈모 생쥐와 정상 생쥐의 발모효과에 대한 실험적 연구

정일국 · 조한영 · 김태현 · 김남석 · 정한솔¹ · 이창현*

우석대학교 한의과대학 해부학교실, 1: 병리학교실

Experimental Studies on the Hair Growth Activity of Extracts of *Pinelliae Rhizoma* in Spontaneous Alopecia Model and Normal C57BL/6N Mice

Il Kook Jeong, Han Young Jo, Tae Heon Kim, Nam Seok Kim, Han Sol Jeong¹, Chang Hyun Lee*

Department of Anatomy, 1: Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Woosuk University

This experiment was investigated the effects of fresh and ginger processed *Pinelliae Rhizoma* extracts on hair growth activity, and its fractions(chloroform, ethyl acetate and water fractions) obtained from fresh *Pinelliae Rhizoma* on hair growth activity of the normal and spontaneous alopecia areata model of C57BL/6N mice for 16 days. The results were as follows: In fresh *Pinelliae Rhizoma* extracts treated group, hair growth effect was observed in whole skin area(100%) all the normal mice in whose hair had been clipped on 16th days. In ginger processed *Pinelliae Rhizoma* extracts treated group, hair growth effect was observed in whole skin area in 25% of normal mice in whose hair had been clipped on 16th days. But in control group, hair growth effect was observed in a part of whole skin area in 25% of normal mice. In fresh *Pinelliae Rhizoma* extracts treated group, hair follicles of middle stage of anagen phase was observed and it were grown down to subcutaneous tissue of skin in all the mice on 10th day. But in ginger processed *Pinelliae Rhizoma* extracts treated group and control group, Most of hair follicles of telogen phase was observed in skin. The treatment of extracts of fresh *Pinelliae Rhizoma* increased the expression of TGF-β(146%), IGF(107%), and prolactin(115%) in the skin of normal C57BL/6N mice compared to control group(100%). But expression of placenta lactogen(93%) was decreased in the skin of normal C57BL/6N mice compared to control group(100%). In spontaneous alopecia model, The hair growth activity of fresh *Pinelliae Rhizoma* extracts treated group(100%) was observed to be strong compared with the control group(20%) on 15th day. Hair growth activity on chloroform fractions of fresh *Pinelliae Rhizoma* extracts was observed in whole skin area in 75% of normal mice on the 9th day. In water and ethyl acetate fractions, hair growth activity was observed in a part of whole skin in 75% and 25% of normal mice, respectively. but hair growth activity of control group was not observed. After application of fractions of fresh *Pinelliae Rhizoma* extracts for 10 days, hair follicles of chloroform fraction treated group was observed middle stage of anagen phase and hair follicle were grown down to subcutaneous tissue of skin in all the mice. But hair follicles of initial stage of anagen phase were observed in water and ethyl acetate fractions. Most of hair follicles of telogen phase was observed in skin of control group. These experiments suggest that extracts of fresh *Pinelliae Rhizoma* may stimulate the topical hair growth activity and its chloroform fractions can be useful for treatment of alopecia areata.

Key words : *Pinelliae Rhizoma*, C57BL/6N mice, hair growth activity, VEGF, c-kit, PKC-α, TGF-β, IGF, prolactin, placenta lactogen, Immunohistochemistry, RT-PCR

서론

* 교신저자 : 이창현, 전북 완주군 삼례읍 후정리 490, 우석대학교 한의과대학

· E-mail : chlee@woosuk.ac.kr, · Tel : 063-290-1559

· 접수 : 2008/12/29 · 수정 : 2009/01/12 · 채택 : 2009/01/30

탈모는 단순히 유전적인 요인으로만 생각되어왔으나, 근래에는 미용에 대한 관심도, 과도한 업무와 같은 스트레스, 불규칙

한 생활 습관, 환경오염, 약물 남용 등의 사회 환경적 원인으로 인해 탈모와 두피질환을 호소하는 인구가 증가함에 따라 점차 중요한 질환으로 인식되고 있다^{1,3)}.

이에 따라 임상에서는 여러 가지 치료 방법들이 다양하게 시술되고 있음에도 불구하고 여전히 국내의 탈모증 환자는 전체 인구의 12%에 이른다. 특히 성인 남성 가운데 20%인 500만 ~ 600만 명이 탈모증에 시달리고 있다는 보고가 있고 여성 탈모자도 80만 명이나 된다고 하며⁴⁾, 점점 초발 연령이 낮아짐을 감안해 볼 때, 탈모를 예방하고 모발의 성장을 촉진시킬 수 있는 새로운 치료 방법의 개발이 더욱 필요하다. 일반적으로 탈모증을 모발의 성장주기에 따라 나누는데 휴지기성 탈모는 남성형 탈모, 산후에 발생하는 탈모, 지루성 탈모 및 내분비질환에 의한 탈모를, 성장기성 탈모는 원형 탈모, 반흔성 탈모 및 두부백선에 의한 탈모를 말하는데⁵⁾, 임상에서는 주로 지루성 탈모와 원형탈모가 많이 발생하고 있다⁶⁾. 탈모의 발병원인으로는 유전적 인자⁷⁾, 국소감염⁸⁾ 및 면역학적 이상⁹⁾ 등으로 알려져 있다.

한의학에서 탈모의 병인병기에 대하여 黃과 余¹⁰⁾는 血熱生風, 血瘀毛竅, 氣血兩虛, 肝腎不足에 의한다고 하였고, 周¹¹⁾는 肝腎虧虛, 氣血不和, 氣滯血瘀, 風熱血燥 등의 원인에 의하여 발생한다고 하였다.

지금까지 양의화학적 탈모 치료 방법은 minoxidil의 국소도포¹²⁾와 면역치료¹³⁾ 등의 방법이 제시되고 있으나 아직까지 탈모의 원인이 확실하게 밝혀지지 않았기 때문에 그 치료법 역시 확실하게 정립된 것이 없다.

최근에는 한의학적으로도 탈모에 관한 많은 연구가 수행되고 있으며, 전통적인 약물내복법 외에 다양한 치료방법들이 보고되고 있다. 약침¹⁴⁾과 봉침¹⁵⁾ 등을 이용하여 유효한 결과를 얻기도 하였으며, 한약재를 이용한 실험적 연구는 신응양진단¹⁶⁾과 사물탕 가미방¹⁷⁾ 등을 이용한 탈모 방지와 발모 촉진에 대한 보고가 있으며, 단일약재를 이용한 연구는 상백피¹⁸⁾와 고삼 추출물¹⁹⁾ 등이 모발의 성장을 촉진한다고 보고하였다.

半夏(Pinelliae Rhizoma)는 천남성과에 속한 다년생 분초인半夏의 괴경을 건조한 것으로, 性味가 辛溫有毒하며 燥濕化痰과 降逆止嘔의 효능이 있으며 외용으로는 消痞散結의 효능이 있어 化膿症에 사용한다²⁰⁾. 또한 Pinellia속의 대표적인 약물은 choline, homogentisic acid, potassium oxalate, protocatechualdehyde 등의 유독물질을 함유하고 있어 복용시 구강, 인후, 소화관 등의 점막을 강하게 자극하여 구토, 경련, 마비 등의 증상을 유발시키며, 피부에 대한 부식성도 있는 것으로 알려져 있다²¹⁾.

최근半夏에 대한 실험적 연구로는 瘀血病態模型²²⁾과 천식 모델 생쥐의 면역기능에 미치는 영향²³⁾ 등이 있으나 탈모와 관련된 연구는 아직 보고된 바 없다.

이에 저자는 탈모 방지 및 발모효과를 갖는 새로운 천연 약물의 개발을 위하여, 자발적 원형탈모 생쥐 모델과 정상 생쥐를 이용하여半夏 추출물과 生半夏 분획물의 육안적인 발모효과와 형태학적인 변화를 관찰하고, 정상 생쥐에서 피부조직내 발모관련 인자들에 대한 면역조직화학적 관찰 및 분자생물학적 변화를 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 실험동물

실험동물은 체중 25 g 내외의 숫놈 7주령 C57BL/6N 정상 생쥐와 21주령 이상의 C57BL/6N 생쥐에서 자발적으로 발생한 원형탈모 생쥐를 이용하였다. 정상 생쥐를 이용한 실험군은 실험의 정확성을 위하여 모두 출생날짜가 유사한 생쥐를 사용하였다. 21주령 이상의 C57BL/6N 원형탈모 생쥐는 실험실에서 사육한 생쥐 중 원형탈모가 발생한 생쥐만을 선발하여 사용하였다.

2) 약재 및 시료제조

(1) 약재

실험에 사용한 수치지 않은 生半夏(Pinellae Rhizoma)와 생강으로 수치한 薑製半夏(Pinellae Rhizoma treated with ginger juice)는 시중 건재약국에서 구입하여 정선하여 사용하였다.

(2) 반하추출물 제조

수치지 않은 반하(이하 生半夏라 함)와 생강으로 수치한 강제반하(이하 薑製半夏라 함)를 각각 200 g씩 분쇄하여, 80% ethanol(EtOH)용액 1000 ml를 넣고 3주간 침지시킨 후 여과하여 감압농축기를 이용하여 농축하였다. 농축된 시료를 동결건조기를 이용하여 건조한 후 生半夏 추출물은 5 g(수득율은 2.5%)을 회수하였고 薑製半夏 추출물은 8 g의 시료를 회수하였다.

(3) 생반하분획물 제조

生半夏 400 g을 분쇄하여 80% ethanol(EtOH)용액 1400 ml를 넣고 3주간 침지시킨 후 여과하여 감압농축기를 이용하여 농축하였다. 농축된 시료를 동결건조기를 이용하여 건조한 후 10 g(수득율은 2.5%)의 시료를 회수하였다. 농축된 시료에 250 ml의 물을 넣은 후 동량의 chloroform을 넣고 분획깔대기에서 chloroform층을 2회 분획하여 회수하였다. 회수된 chloroform층을 감압농축기를 이용하여 농축한 후 동결건조하여 4 g의 분획물을 회수하였다. Chloroform으로 분획하고 남은 물층을 다시 ethyl acetate(EtOAc)를 넣고 분획깔대기에서 EtOAc층을 3회 분획하여 회수하였다. 회수된 EtOAc층을 감압농축기를 이용하여 농축한 뒤 동결건조하여 EtOAc분획물 1 g을 회수하였다. 그 후 EtOAc로 분획하고 남은 물층을 감압농축기를 이용하여 농축한 뒤 동결건조하여 물층 분획물 5 g을 회수하여 실험에 사용하였다.

2. 실험방법

1) 실험군 배정 및 도포방법

정상적인 생쥐를 이용한 실험에서는 생쥐의 등부위의 털을 소동물용 clipper를 이용하여 깎은 후에 정상적인 휴지기상태에 있는 생쥐만을 선발하여 실험군을 배정하였다. 또한 원형탈모 생쥐군에서는 탈모가 일어난 등부위에만 도포하였으며, 일부 원형탈모 생쥐군에서는 원형탈모 부위 주위에 있는 털을 깎고 도포하였다. 반하추출물을 이용한 실험군은 정상 생쥐를 대조군, 生半夏 추출물 도포군 및 薑製半夏 추출물 도포군으로 나누었고, 자발적 원형탈모 생쥐를 이용한 실험은 대조군과 生半夏 추출물 도포군으로 나누었다. 생반하분획물을 이용한 실험군은 정상 생

쥐를 대조군, chloroform 분획물 도포군, ethyl acetate 분획물 도포군 및 물분획 도포군으로 나누어 시행하였다.

시료의 도포액은 반하추출물 도포액(生半夏와 薑製半夏)과 생반하분획물 도포액은 추출물 각각 1 g을 50% EtOH 용액 30 ml에 희석하여 피부에 도포하였으며, 대조군의 경우 50 % EtOH(ethanol)만을 피부에 도포한 군을 대조군으로 하였다. 모든 실험군에서 시료의 도포는 하루 2회씩 오전과 오후에 1회씩 스프레이를 이용하여 뿌린 후에 면봉을 사용하여 3-4회 문질러 흡수를 촉진시켰다.

2) 반하추출물과 생반하분획물에서의 발모현상 관찰방법

정상 생쥐에서 반하추출물(生半夏와 薑製半夏 추출물)과 생반하분획물의 발모현상을 관찰하기 위하여 소동물용 clipper로 털을 짧게 깎고 시료를 도포한 후 8일, 10일 및 16일 동안 관찰하였다. 자발적 원형탈모 생쥐에서 생반하추출물의 발모현상을 관찰하기 위하여 정상 생쥐에서 사용하였던 같은 농도로 희석하여 실험에 사용하였다. 실험동물은 각 군에 4-5마리씩 배정하였으며 도포방법은 정상 생쥐에서의 발모실험과 같은 방법으로 도포하였으며, 도포하기 전에 촬영한 사진과 도포 후 6일, 12일 및 15일 재에 촬영한 사진을 육안적으로 비교 관찰하였다.

3) 광학현미경적 관찰

정상 생쥐의 피부내 모낭의 변화를 관찰하기 위하여 반하추출물(生半夏와 薑製半夏 추출물)과 생반하분획물을 도포한 후 각각 10일째와 9일째에 2마리를 희생시켜 등쪽 피부를 척추선에 평행하게 절개하여 normal buffered formalin 용액으로 고정하였다. 고정 후 일반적인 방법에 의하여 수세, 탈수과정을 거쳐 paraffin으로 포매하였으며, 포매 후 7 μm의 절편을 제작하여 H&E 염색을 시행하였다.

Table 1. PCR primers

Target gene		Sequence	Amplicon size(bp)
GAPDH	forward	5'-TGCACCACCAACTGCTTAG-3'	177
	reverse	5'-GGATGCAGGGATGATGTTTC-3'	
PL	forward	5'-CTTGAGGTGCCGAGTTGTCTT-3'	99
	reverse	5'-GGAAAGCATTACAAGTCTGGTTCA-3'	
PRL	forward	5'-CTCTCAGGCCATCTGGAGAA-3'	68
	reverse	5'-GGCTGACCCCTGGCTGTT-3'	
TGF-β	forward	5'-CCACACGAAATCTATGACA-3'	245
	reverse	5'-ACTCCGCTGACATCAAAGA-3'	
IGF-1	forward	5'-ACATCTCCCATCTCTCTGGA-3'	283
	reverse	5'-AAAGAGAGCACACCAGTCCA-3'	

4) RT-PCR 시행

정상 생쥐에 생반하추출물을 도포한 후 10일째에 피부를 적출하여 deep freezer(-70℃)에 보관해 두었다가 피부조직 100 mg에 Trizol 1 ml를 넣어 homogenizer로 분쇄하였으며, 제조회사의 방법에 준하여 RNA를 추출하였다. 이후 spectrophotometer를 이용하여 260, 280 nm에서 OD값을 측정하여 RNA를 정량화 했다. Total RNA 1 μg으로 ImProm-II reverse transcriptase (Promegar M314A)를 이용하여 제조회사의 방법에 준하여 cDNA를 합성하였고, GoTaq(Promegar M712B)을 이용하여

thermal cycler (Perkin Elmer 2400, USA)에서 30 cycle 동안 증폭하였다. 각각의 cycle은 94℃에서 30 초간 denaturation 시킨 후, primer에 따라 48-56℃에서 30 초간 annealing 시키고, 72℃에서 30 초간 extension시켰다. PCR product는 1% agarose gel에서 전기영동하였고, ethidium bromide로 염색을 한 후 Gel Doc(Bio-Rad, USA)을 사용하여 관찰하였다²⁴⁾. PCR에 사용된 primer는 Table 1과 같다.

결 과

1. 정상 생쥐에서 生半夏 추출물과 薑製半夏 추출물의 발모효과 관찰

1) 정상 생쥐에서의 육안적 발모효과 관찰

정상 생쥐에서 반하의 발모효과를 관찰하기 위하여 정상 생쥐 등쪽부위의 털을 소동물용 clipper로 짧게 깎은 후에 1일 2회씩 50% EtOH을 도포한 대조군(이하 control group)과 生半夏 추출물을 도포한 군(이하 PR군 이라 함) 및 薑製半夏 추출물을 도포한 군(이하 PRG군이라 함)으로 나누어 16일 동안 도포한 후 관찰한 결과는 다음과 같다.

털을 깎은 후 50% EtOH을 8일째 도포한 control군에서는 4마리 모두 육안적인 발모현상은 전혀 관찰할 수 없었으나(Fig. 1a), PP군에서는 피부가 희색으로 변하는 발모현상을 4마리 가운데 3마리에서 관찰하였고(Fig. 1b), PRG군에서는 4마리 가운데 1마리에서 발모현상을 관찰하였다(Fig. 1c).

털을 깎은 후 50% EtOH을 10일째 도포한 control군에서는 4마리 가운데 1마리에서만 부분적인 발모현상을 관찰하였고(Fig. 2a), RP군에서는 4마리 전체에서 발모현상을 관찰하였다(Fig. 2b), RPG군에서는 4마리 가운데 2마리에서 부분적인 발모현상을 관찰하였다(Fig. 2c).

털을 깎은 후 50% EtOH을 16일째 도포한 control군에서는 4마리 가운데 1마리에서만 부분적인 발모현상을 관찰하였고(Fig. 3a), PR군에서는 4마리 전체에서 털을 깎은 전체부위에서 발모현상을 관찰하였다(Fig. 3b). 그러나 PRG군에서는 4마리 가운데 1마리에서만 전체적인 발모현상을 관찰하였다(Fig. 3c). 정상 생쥐에서 생반하추출물(PR군)과 강제반하 추출물(PRG군)의 발모효과는 생반하 추출물을 도포한 모든 생쥐에서 발모현상을 뚜렷하게 관찰하였다.

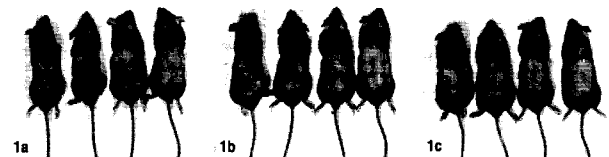


Fig. 1. Macroscopic observation after topical application of vehicle, 50% EtOH (control group) (1a), extracts of *Pinelliae Rhizoma* (PR group) (1b) and ginger *Pinelliae Rhizoma* (herb is treated with ginger juice, PRG group) (1c) to the hair removed skin of C57BL/6N mice on 8th day. Extensive hair growth activity was observed in treated group with extracts of *Pinelliae Rhizoma* (PR group).



Fig. 2. Macroscopic observation after topical application of vehicle, 50% EtOH (control group) (2a), extracts of *Pinelliae Rhizoma* (PR group) (2b) and ginger *Pinelliae Rhizoma* groups (treated with ginger juice, PPG group) (2c) to the hair removed skin of C57BL/6N mice on 10th day. Extensive hair growth activity was observed in treated group with extracts of *Pinelliae Rhizoma* (PR group, 2b).

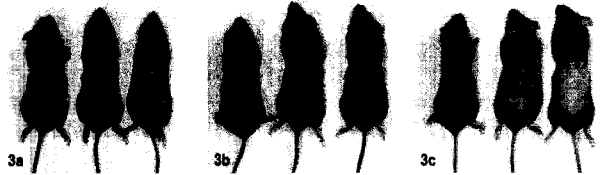


Fig. 3. Macroscopic observation after topical application of vehicle, 50% EtOH (control group) (3a), extracts of *Pinelliae Rhizoma* (PR group) (3b) and ginger *Pinelliae Rhizoma* groups (treated with ginger juice, PRG group) (3c) to the hair removed skin of C57BL/6N mice on the 16th day. Extensive hair growth activity was observed in treated group with extracts of *Pinelliae Rhizoma* (PR group, 3b).

2) 정상 생쥐에서의 광학현미경적 발모효과 관찰

정상 생쥐의 털을 깎고 control군(대조군), PR군(生半夏추출물 도포군) 및 PRG군(薑製半夏 추출물 도포 군)으로 나누어 시료를 도포한 다음 실험 10일째에 생쥐를 희생시켜 조직절편을 제작하여 H&E염색을 시행하여 모낭의 변화를 광학현미경으로 관찰하였다.

대조군에서는 휴지기 모낭으로서 어떠한 변화도 관찰할 수 없었다(Fig. 4a). 그러나 PR군에서는 전체적으로 성장기 중기의 모낭이 전체적으로 관찰되었으며, 모낭들은 피하층까지 성장하여 있었다(Fig. 4b). PRG군에서는 일부 모낭에서만 휴지기에서 성장기 모낭으로 성장하여 피부의 진피층에서 피하층으로 이행하는 부위까지 성장한 모낭들이 관찰되었으며, 일부 모낭들은 휴지기 상태로 존재하였다(Fig. 4c).



Fig. 4. Longitudinal section of C57BL/6N mice after topical application of vehicle, 50% EtOH (control group) (4a) and extracts of *Pinelliae Rhizoma* (PR group) (4b) and ginger *Pinelliae Rhizoma* groups (treated with ginger juice, PRG group) (4c) to the hair removed skin in C57BL/6N mice on 10th day (H&E, X100).

2. 정상 생쥐에서 生半夏 추출물의 TGF-β, IGF, prolactin 및 placenta lactogen 발현에 미치는 영향

정상생쥐에서의 분자생물학적 변화를 관찰하기 위하여 생반

하추출물을 도포한 군(PR군)에서의 발모 관련 인자들의 발현량을 관찰한 바 도포 후 10일째 TGF-β의 발현은 대조군(100%)에 비하여 PR군에서 146%로 발현량이 증가하였으며(Fig. 5), IGF의 발현은 대조군에 비하여 PR군이 107%로 약간 증가하였다(Fig. 6). Prolactin(PRL)의 발현은 대조군에 비하여 PR군이 약 115%로 증가하였으나(Fig. 7) placenta lactogen(PL)은 대조군에 비해 PR군이 약 93%로 감소하였다(Fig. 8).

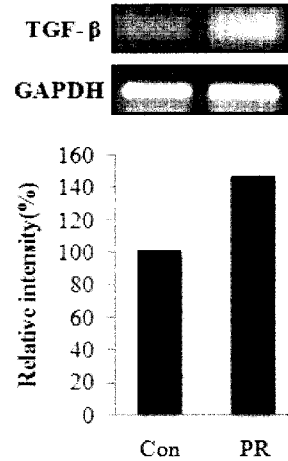


Fig. 5. Comparison of TGF-β expression after topical application of vehicle, 50% EtOH (control group, Con) and extracts of *Pinelliae Rhizoma* (PR group, RP) to the hair removed skin of C57BL/6N mice on 10th day.

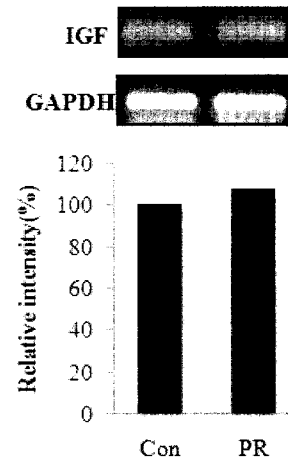


Fig. 6. Comparison of IGF expression after topical application of vehicle, 50% EtOH (control group, Con) and extracts of *Pinelliae Rhizoma* (PR group, RP) to the hair removed skin of C57BL/6N mice on 10th day.

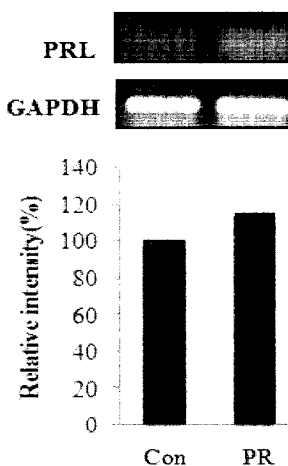


Fig. 7. Comparison of PRL (prolactin) expression after topical application of vehicle, 50% EtOH (control group, Con) and extracts of *Pinelliae Rhizoma* (PR group, PR) to the hair removed skin of C57BL/6N mice on 10th day.

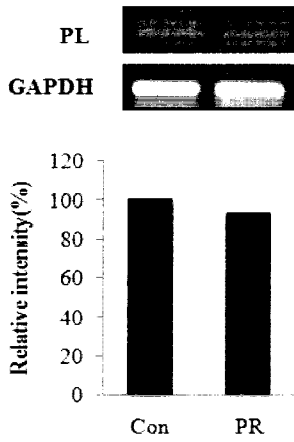


Fig. 8. Comparison of PL (placenta lactogen) expression after topical application of vehicle, 50% EtOH (control group, Con) and extracts of *Pinelliae Rhizoma* (PR group, PR) to the hair removed skin of C57BL/6N mice on 10th day.

3. 자발적 원형탈모 생쥐에서 생반하추출물의 발모효과 관찰

자발적 원형탈모 생쥐에서 대조군과 생반하추출물을 15일간 도포한 군(PR군)에서의 발모효과를 관찰한 결과는 다음과 같다.

실험 개시전 0일째부터 15일째까지 대조군에서의 육안적인 발모현상은 6일째, 12일째 및 15일째에는 5마리 가운데 1마리에서 일부 발모현상을 관찰할 수 있었으나(Fig. 9b-c), 나머지 4마리에서는 발모현상을 전혀 관찰할 수 없었다. 그러나 PR군에서는 6일째에 5마리 가운데 2마리에서(Fig. 10b), 12일째부터는 5마리 전체에서 발모현상을 관찰하였다(Fig. 10c-d).

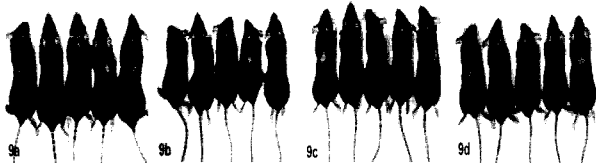


Fig. 9. Macroscopic observation before the experiment (0day) (9a), and after topical application of vehicle, 50% EtOH on the 6th day (9b), 12th day (9c) and 15th day (9d) of control group in spontaneous alopecia areata model of C57BL/6N mice. Hair growth activity was not observed in 50% EtOH treated control group.

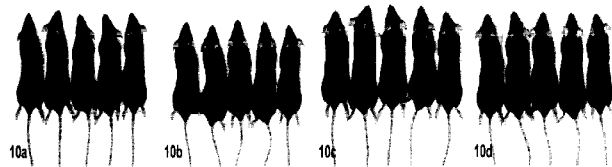


Fig. 10. Macroscopic observation before the experiment (0day) (10a), and after topical application of extracts of *Pinelliae Rhizoma* (PR group) during 6th day (10b), 12th day (10c) and 15th day (10d) of *Rhizoma Pinelliae* group in spontaneous alopecia areata model of C57BL/6N mice. Hair growth activity was observed in treated group with extracts of *Pinelliae Rhizoma* (PR group) during 12th day (10c) and 15th day (10d).

또한 자발적 원형탈모생쥐의 털을 깎고 17일간 비교한 바 대조군에서는 17일째까지 어떠한 발모현상도 관찰 할 수 없었으나(Fig. 11b-d; No. 4, 5 mice) RP군에서는 대체적으로 육안적인 발모현상을 뚜렷하게 관찰하였다(Fig. 11b-d; No. 1, 2, 3 mice).

자발적 원형탈모 생쥐(Fig. 12a)에 15일간 도포한 후 털을 깎

고 관찰 한 바 대조군에서는 15일째까지 어떠한 발모현상도 관찰 할 수 없었으나(Fig. 12b) RP군에서는 원형탈모 부위에 전체적으로 육안적인 발모현상을 뚜렷하게 관찰하였다(Fig. 12c).

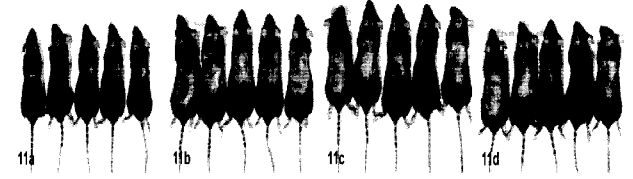


Fig. 11. Macroscopic observation before the experiment (0day) (11a), and after topical application of vehicle, 50% EtOH (control group) and extracts of *Pinelliae Rhizoma* (PR group) during 6th day (11b, control group; No. 4, 5 mice, 11b, RP group; No. 1, 2, 3 mice), 12th day (11c, control group; No. 4, 5 mice, 11c, PR group; No. 1, 2, 3 mice) and 15th day (11d, control group; No. 4, 5 mice, 11d, treated with extracts of *Pinelliae Rhizoma*; No. 1, 2, 3 mice) in spontaneous alopecia areata model of C57BL/6N mice. Hair growth activity was observed in treated group with extracts of *Pinelliae Rhizoma* during 12th day and 15th day.

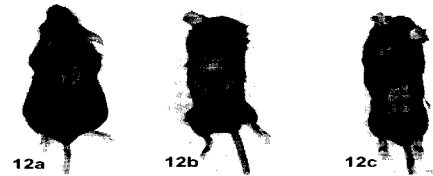


Fig. 12. Macroscopic observation before the experiment (0day) (12a), and hair removed skin after topical application of vehicle, 50% EtOH (control group) (12b) and extracts of *Pinelliae Rhizoma* (PR group) (12c) during 15th day in spontaneous alopecia areata model of C57BL/6N mice. Hair growth activity was observed in treated mice with extracts of *Pinelliae Rhizoma* during 15th day (12c).

4. 정상 생쥐에서 생반하분획물의 발모효과 관찰

정상 생쥐의 털을 깎고 9일간 생반하분획물을 도포한 결과 대조군에서는 어떠한 발모현상도 관찰할 수 없었다(Fig. 13a). 생반하분획물 중 chloroform 분획층을 도포한 4마리의 동물중 3마리에서 발모현상이 전체적으로 관찰되었으나(Fig. 13b), ethyl acetate 분획층을 도포한 4마리 동물중 1마리에서 부분적인 발모 현상을 관찰하였다(Fig. 13c). 그러나 chloroform과 ethyl acetate로 분획하고 남은 물층을 도포한 4마리 동물중 3마리에서는 발모현상이 부분적으로 관찰되었다(Fig. 13d).

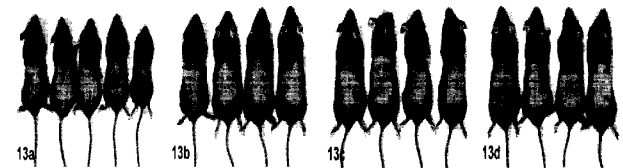


Fig. 13. Macroscopic observation after topical application of vehicle, 50% EtOH (control group) (13a), chloroform fraction (13b), ethyl acetate fraction (13c) and water fraction (13d) of extracts of *Pinelliae Rhizoma* on 9th day in C57BL/6N mice. Hair growth activity was observed in treated group with chloroform fraction (13b) and water fraction (13d) of extracts of *Pinelliae Rhizoma* on 9th day.

5. 정상 생쥐에서 발모현상에 대한 생반하분획물의 광학현미경적 소견

정상 생쥐에 생반하분획물을 10일간 도포한 후 희생시켜 조직절편을 제작하여 H&E염색을 시행하여 모낭의 변화를 광학현미경으로 관찰하였다. 대조군에서는 휴지기 모낭으로서 어떠한 변화도 관찰할 수 없었으나(Fig. 14a), 생반하분획물의 chloroform 분획층을 도포한 군에서는 휴지기에서 성장기 중기로 성장하여 피부의 피하층까지 성장 한 후 모간이 다시 진피층까지 성장하였다(Fig. 14b). Ethyl acetate 분획층을 도포한 군에서는 휴지기에서 성장기 초기로 분화하는 단계로서 모낭의 성장이 미약하게 관찰되었다(Fig. 14c). 물을 도포한 군에서는 발생중인 성장기 초기 또는 중기의 모낭들이 진피층과 피하층에서 주로 관찰되었으므로 일부 모낭의 모간이 진피층에서도 관찰되었다(Fig. 14d).

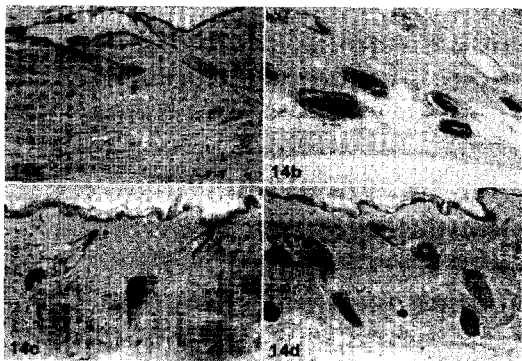


Fig. 14. Longitudinal section of C57BL/6N mice after topical application of vehicle, 50% EtOH (control group) (14a), chloroform fraction (14b), ethyl acetate fraction (14c) and water fraction (14d) of extracts of *Pinelliae Rhizoma* on 9th day (H&E, X100).

고찰

탈모증은 생명에 직접적인 위협을 가하는 질환은 아니지만, 여러 가지 사회적 또는 환경적인 원인에 의하여 환자가 계속 증가하는 추세에 있다. 또한 외적 미용을 중시하는 사회적 현상으로 인해 우울증, 대인공포증, 자신감 결여 등 정신과적 문제를 유발시켜 2차적인 사회문제를 일으킬 수 있다는 점에서 점점 중요한 질환으로 인식되고 있다. 하지만 탈모 및 발모와 관련된 여러 가지 요인들이 매우 복잡하고 다양하기 때문에 정확한 발병원인 및 치료기전을 밝히기가 매우 어려운 상황이며, 이 때문에 환자들이 받는 정서적 고통과 경제적 비용이 계속 증가하는 추세이다.

한의학에서 탈모의 원인으로는 腎虛, 肺氣虛, 血熱, 氣血虛, 血虛, 瘀血, 七情 등의 內因과 風邪, 風熱, 濕熱, 五味傷, 蟲, 火 등의 外因으로 구별할 수 있으며, 이 중에서 신체의 허한 틈을 타서 風邪가 침범한 것으로 보는 견해가 많다²⁵⁾. 특히 血虛와 風邪와의 관계는 밀접한데, 越²⁶⁾는 “白禿”은 기혈이 부족하여 풍사가 위로 침범한 것(血氣虛升風而上)이 원인이라 하였으며, 裘²⁷⁾는 원형탈모증의 원인을 첫째로 精血이 부족하여 피부에 영양공급이 안되어 毛孔이 開口하게 되고, 그 틈으로 風邪가 침입하여 風盛血燥로 피부에 영양실조를 일으켜 발생한다고 하였다. 또한 탈

모와 血虛와의 관계에 대하여 許²⁸⁾는 머리털은 혈의 나머지므로 혈이 성하면 머리털에 윤기가 있고, 혈이 부족하면 머리털에 윤기가 없다(髮者血之餘 血盛則髮潤 血衰則髮衰)라 하였고, 또한 젊어서 머리털이 빠지거나 수염이 빠지는 것은 화가 성해서 혈이 말랐기 때문이다(少壯有髮落 或鬚亦落者 火炎血燥故也)라 하였다. 巢²⁹⁾는 “鬢髮禿落”의 원인으로 혈이 성한즉 두발에 영양이 충분하여 머리털이 윤택하고 만약 기혈이 쇠약하여 경맥이 부족하게 되면 윤택하지 못하다(血盛則榮於頭髮 髮鬢髮美 若血氣衰弱脈虛竭不能榮潤)라고 설명하였는데 이는 근래에 보고된 活血化癥 치료법으로 혈액순환을 증가시켜 탈모 증세를 개선시켰다는 연구보고^{30,31)}와도 관계가 있다.

탈모 및 발모와 관련된 여러 가지 요인들은 매우 복잡하고 다양하기 때문에 정확한 기전을 밝히기가 매우 어렵고, 탈모관련 실험동물 모델을 만들기 어려워 탈모기전 규명과 탈모치료제를 개발하는 데에도 어려움이 있었다. 본 실험에서는 半夏의 유독성 성분이 피부의 직접적인 자극을 유발하여 국소적인 기혈순환을 촉진시켜 모발의 성장을 유발하게 할 수 있다는 가능성에 근거를 두고 반하추출물(生半夏 추출물과 薑製半夏 추출물)과 여러 가지 용매를 사용하여 분획한 생반하분획물을 정상 생쥐와 자연적으로 발생한 원형탈모 생쥐를 이용하여 양모와 발모 효과를 실험적으로 검증하고자 하였다.

본 실험에 사용된 半夏(*Pinelliae Rhizoma*)는 전남성곡에 속한 다년생 본초인 半夏 *Pinellia ternata*(THUNB.) BREIT.의 괴경을 건조한 것으로, 性味가 辛溫有毒하며 燥濕化痰과 降逆止嘔의 효능이 있으며 외용으로는 消痞散結의 효능이 있어 化膿腫에 사용하였으며²⁰⁾, 또한 *Pinellia*속의 대표적인 약물로서 choline, homogentisic acid, potassium oxalate, protocatechualdehyde 등의 유독물질을 함유하고 있어 복용 시 구강, 인후, 소화관 등의 점막을 강하게 자극하여 구토, 경련 및 마비 등의 증상을 유발시키고, 피부에 대한 부식성도 있는 것으로 알려져 있다²¹⁾.

반하를 탈모치료에 이용한 기록을 살펴보면, 許³²⁾는 눈썹과 머리털이 빠져서 나오지 않는 질환에 먼저 생강으로 세 번 문지른 다음 半夏를 가루내서 참기름에 개어 바르면 치유된다고 하였고(半夏. 治尾髮落, 不生. 先用生薑擦三次後, 半夏生爲末, 麻油調塗之, 卽生), 杜³³⁾는 生薑과 生半夏 및 麻油를 섞어 피부질환을 치료하였는데 王³⁴⁾은 이를 이용하면 피부가 윤택해지고 모낭에 영양분이 공급되므로 斑禿의 외용제로 사용한다고 하였다.

그래서 본 실험에서는 반하의 점막자극 물질에 의한 발모효과를 실험적으로 관찰하고자 반하 추출물(生半夏와 薑製半夏)과 생반하분획물을 이용하였다. 본 실험에서 生半夏 추출물과 薑製半夏 추출물을 정상 생쥐에 16일간 도포한 후 관찰하면 털을 깎은 후 50% EtOH을 16일째 도포한 대조군에서는 4마리 동물중 1마리에서만 발모현상이 부분적으로 관찰되었고, 薑製半夏 추출물을 도포한 실험군에서는 4마리 동물 중 1마리에서만 발모현상이 전체적으로 관찰되었으나 生半夏 추출물을 도포한 군에서는 4마리 전체에서 발모현상이 털을 깎은 전체부위에서 관찰되었다. 또한 도포 후 모낭의 변화를 광학현미경으로 관찰 한 바 대조군에서는 휴지기 모낭으로서 어떠한 변화도 관찰할 수 없었으나, 강

제반하추출물을 도포한 실험군에서는 일부 모낭에서만 휴지기에 성장기 모낭으로 성장하여 있었고 일부 모낭들은 휴지기 상태로 존재하였으나, 생반하추출물을 도포한 군에서는 전체적으로 성장기 중기로 성장한 모낭으로서 모낭들이 피하층까지 성장하여 있었다. 이상의 실험결과로 정상 생쥐에서 생반하추출물을 도포한 모든 생쥐에서는 발모현상이 뚜렷하게 관찰되어 생반하추출물에는 발모를 촉진하는 물질이 함유되어 있음을 알 수 있었다.

두피의 돌발성 및 국한성 탈모는 모발이 혈액으로부터 영양 공급을 받을 수 없게 되어 발생하는데, 이는 한의학에서 탈모에 관한 외치법에 사용된 약물들이 대부분 자극적인 독성을 가지고 있는 경우가 많은 것과도 연관이 있다. 독성자극이 피부의 국소적인 혈액순환을 촉진시켜 모낭에 영양공급을 원활하게 함으로써 휴지기 모낭을 성장기 모낭으로 전환하는 역할을 하기 때문이라는 보고⁶¹⁾와 유사하게 본 실험에서도 薑製半夏 추출물보다 生半夏 추출물에서 발모현상을 뚜렷하게 관찰하였다.

본 실험에서 9일째 생반하분획물을 9일째 도포한 결과 대조군에서는 어떠한 발모현상도 관찰할 수 없었으나 chloroform 분획층을 도포한 4마리 동물 중 3마리에서 발모현상을 전체적으로 관찰되었고, ethyl acetate 분획층을 도포한 4마리 동물중 1마리에서 발모현상을 부분적으로 관찰하였다. 물층을 도포한 4마리 가운데 3마리에서는 발모현상을 부분적으로 관찰하였으나 chloroform 분획층을 도포한 군보다는 약간 미약하였다. 또한 본 실험 10일째 모낭의 광학현미경적 변화에서 대조군에서는 휴지기 모낭으로서 어떠한 변화도 관찰할 수 없었으나 chloroform 분획층을 도포한 군에서는 휴지기에서 성장기 중기로 성장하여 있었고, 물층에서는 성장기 초기 또는 중기로 성장하여 있었다. 또한 본 실험의 자발적 원형탈모 생쥐모델에서 생반하추출물을 15일간 도포한 실험군에서의 발모효과를 육안적으로 관찰한 결과, 대조군에서는 5마리 가운데 1마리에서 일부 발모현상을 관찰할 수 있었으나, 생반하추출물을 도포한 군에서는 12일째부터 5마리 전체에서 발모현상이 관찰되었다. 이상의 실험결과로 생반하분획물의 chloroform 분획층과 물층에는 정상 생쥐와 자발적 원형탈모생쥐에서 발모를 촉진하는 물질이 함유되었음을 알 수 있었다.

털은 자발적 또는 인위적인 자극에 의하여 휴지기에서 성장기로 유발되는데, 특히 인위적으로 털을 성장기로 유발시킬 때에는 피부에 직접적인 자극을 가하는 방법을 사용하게 된다^{35,36)}. 피부에 직접적인 자극을 일으키는 방법에는 털을 뽑거나, 심하게 면도를 하거나, 화학물질(부식시키는 물질이나 제모제) 등에 노출시키는 방법 등이 있다. 중요한 사실은, 피부에 손상을 주지 않고 털을 깎으면 모낭의 상피에서 새로운 털의 성장이 일어나지 않으며³⁷⁾, 또한 접촉면역요법 중 diphenylcyclopropenone (DPCP)를 도포하여 치료하는 방법에 있어서도 DPCP 도포 후 소양감과 발적 등의 알러지 반응이 없을 정도로 낮은 농도로 치료하면 발모효과가 나타나지 않는다고 하였다³⁸⁾. 즉, 이러한 자발적이거나 또는 인위적인 자극으로 인하여 세포의 괴사와 염증이 유발되고³⁹⁾ 이로 인해, 털의 성장기를 유발시키는 proinflammatory cytokine이 방출되어 발모를 유발시킨다고 하였다⁴⁰⁾. 본 실험에서 chloroform 분획층과 물층에서 발모현상이

나타난 것은 피부에 자극을 주는 물질들이 이 두 분획층에 많이 함유되었기 때문에 일어난 현상이라고 사료된다.

한의학에서 점막과 피부를 자극하는 약재를 이용하여 치료 효과를 내는 치법에는 발포요법이 있다. 발포요법이란 灸法의 일종으로, 피부를 자극하는 약물을 피부에 도포시켜 피부에 發泡를 일으켜 치료하는 방법이다. 이러한 요법은 약물의 유효성분을 직접 혈위에 작용시켜 비교적 긴 시간동안 경락을 자극하여 기혈의 운행을 촉진시키며 臟腑와 陰陽을 조정함으로써 치료효과를 일으키게 하는 방법이다. 즉, 피부가 發泡되면서 국소적으로 혈관이 확장되고 혈관 투과성이 높아져 피부의 흡수력을 높여 혈위에 도달하여 자극에 의한 신경반사와 약물 자체의 약리 효과와 같은 이중적인 작용을 하게하며, 몇몇 항체형성 촉진에 의한 면역기능을 증가시킨다고 하였다⁴¹⁾.

피부의 신경내분비계통은 화학적 또는 생물학적인 자극에 대한 체계적인 생물학적 반응을 통하여 피부의 구조적 그리고 기능적인 역할을 보존하는 중요한 기능을 함으로써 피부의 항상성을 유지하고⁴²⁾, 인간의 피부에는 성장호르몬, 성장호르몬 수용체 및 성장호르몬 매개성 insulin-like growth factor 유전자들이 발현되어 출생 후 그리고 사춘기로의 성장에 중요한 기능을 한다⁴³⁾. IGF-I는 모낭 발생시 세포분화와 이주를 조절하여 털성장을 촉진한다⁴⁴⁾. IGF-I는 진피유두세포에서 만들어지고⁴⁵⁾, keratinocyte에 IGF-I receptor가 있다고 함으로써⁴⁶⁾ 진피유두세포에서 만들어진 IGF-I는 모낭에 있는 keratinocyte의 증식을 초래하여 털을 성장시킨다고 하였다. 탈모 또는 발모와 관련된 피부에 존재하는 cytokines 중 IL-1과 TNF는 모발세포의 세포사를 유발함으로써 탈모를 일으키게 되며, TGF-β1은 모발의 성장기로의 성장을 방해하고, 남성호르몬인 androgen은 모발의 성장기를 짧게함으로써 정상보다 빨리 퇴행기로 접어들게 한다. 한편, IGF-1, TGF-β2, EGF, FGH, prolactin 등과 같은 성장인자는 모발의 성장을 촉진하고 모발세포의 세포사를 방지하는 것으로 알려져 왔다^{47,48)}.

본 실험에서 정상생쥐에서의 분자생물학적 변화를 관찰하기 위하여 생반하추출물을 도포한 후 털의 성장과 관련된 인자들의 발현량을 관찰한 바 TGF-β의 발현은 대조군(100%)에 비하여 생반하추출물을 10일간 도포한 군에서 146%로 발현량이 증가하였으며, IGF의 발현은 대조군에 비하여 107%로 약간 증가하였다. 또한 prolactin(PRL)의 발현은 대조군에 비하여 반하추출물 도포군이 약 115%로 증가하였으나 placenta lactogen(PL)은 대조군에 비해 약 93%로 감소하였다.

Harada 등⁴⁹⁾은 capsaicin에 민감한 신경세포는 유해자극 신경원으로서 혈관주위나 둘러싸고 있는 상피내에 있는 많은 조직에서 관찰되는데, 이 신경원에서는 다양하고 유해한 물리적 또는 화학적 자극에 의하여 calcitonin-gene related peptide(CGRP)를 방출하여 vanilloid receptor-1을 활성화하여 혈관을 확장시켜 조직내 충혈을 야기한다고 하였다. 또한 감각신경원의 활성화에 의한 CGRP의 분비가 fetal rat osteoblast에서 cAMP수준을 증가시켜⁵⁰⁾ IGF-1의 분비를 촉진한다고 하였다. 이러한 연구보고와 비교하면 본 실험에서의 IGF의 발현량의 증가는 반하추출물의 점막 자극 물질에 의한 감각신경세포의 활성화에 의한 CGRP분비 촉진

및IGF 발현양의 증가를 초래한 것으로 사료된다.

Foitzik 등⁵¹⁾은 prolactin에 대한 면역반응은 모낭주기의 휴지기에서는 외모근초의 keratinocytes에서만 미약한 면역반응을 나타내나 성장기 초기와 탈기에는 내, 외모근초에서 강한 면역반응을 나타낸다고 하여 본 실험의 prolactin에 대한 발현이 115%로 증가한 결과와 유사하였다. 또한 placenta lactogen의 발현은 털을 뽑은 후 3일째에 20배정도 증가한 후 빠르게 감소하여 퇴행기에는 다시 급격히 감소한다고 하였는데 이는 본 실험에서 반하추출물 도포군의 placenta lactogen의 발현이 대조군에 비하여 감소한 것은 털의 빠른 성장에 의하여 퇴행기로의 빠른 전환이 일어났기 때문일 것으로 사료된다.

결 론

탈모방지 및 발모효과를 갖는 새로운 천연 약물의 개발을 위하여, C57BL/6N 정상생쥐와 자발적 원형탈모 생쥐 모델을 이용하여 생반하추출물, 강제반하추출물 및 생반하분획물의 발모효과를 관찰하고자 생쥐 피부의 육안적인 발모효과, 형태화적인 변화 및 TGF-β, IGF, prolactin 및 placenta lactogen의 발현에 미치는 영향을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 정상생쥐에서 생반하추출물과 강제반하추출물을 도포한 실험군은 대조군에 비하여 육안적인 발모현상을 뚜렷하게 관찰하였고, 생반하추출물은 실험 8일째부터 육안적인 발모효과를 나타내었으며, 강제반하추출물을 도포한 군보다 발모현상이 뚜렷하였다. 정상생쥐에서 생반하추출물을 실험 10일째 도포한 군에서는 전체적으로 성장기 중기의 모낭으로서 모낭들은 피하층까지 성장하였으며, 강제반하를 도포한 실험군에서는 일부 모낭에서만 휴지기에서 성장기 모낭으로 성장하여 피부의 진피층에서 피하층으로 이행하는 부위까지 성장한 모낭들이 관찰되었다. 정상 생쥐에서 생반하추출물을 도포한 후 털의 성장과 관련된 인자들의 발현량을 10일째에 관찰한 바 TGF-β의 발현은 대조군(100%)에 비하여 생반하추출물 도포군에서는 146%로, IGF의 발현은 107%로, prolactin의 발현은 약 115%로 증가하였으나 placenta lactogen은 대조군에 비해 약 93%로 감소하였다. 자발적 원형탈모생쥐에서 생반하추출물을 15일간 도포한 실험군에서는 5마리 전체에서 육안적인 발모현상이 관찰되었다. 정상 생쥐에서 생반하분획물의 chloroform 분획층과 물층을 실험 9일째 도포한 군에서는 4마리 가운데 3마리에서 각각 전체적 또는 부분적인 발모현상을 관찰하였다.

이상의 실험결과 생반하추출물에는 정상 생쥐와 자발적 원형탈모 생쥐에서 털의 성장을 촉진시키는 양모와 발모효과가 강제반하추출물보다 양호하였으며, 특히 생반하분획물의 경우 chloroform 분획층에서 모발의 성장과 관련된 물질이 많이 함유되었음이 나타나 탈모의 예방과 치료에 응용될 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2007년도 학술진흥재단의 지원(KRF-2007-E00170)

에 의하여 연구되었습니다.

참고문헌

1. Headington, J.T. Histological findings in androgenic alopecia treated with topical minoxidil. *Br J Dermatol* 107(Suppl. 22):20-21, 1982.
2. 문정배, 김영진, 이태후. 한의학적 탈모 치료효과의 객관적 평가 방법. *대한한의학회지* 27(2):57-69, 2006.
3. 이태후, 문정배, 안경애, 이해정. 탈모 환자의 적외선 체열 진단상 안면부 체열 특성. *대한한의학회지* 27(2):249-252, 2006.
4. 윤신혁. 다양한 發毛成長 物質에 대한 動物 實驗 및 分子生物 學籍 接近:아젤라인산 및 비타민 B6의 효과. 대구가톨릭대학교 대학원, 석사학위논문, 2007.
5. 최근희 외 11인, 모발과학, 수문사, pp 138-140, 2001.
6. 馬紹堯, 趙尙華. 現代中醫皮膚性病診療大全, 山西科學技術出版社, p 957, 1998.
7. Selmanowicz, V., Victor, S., Warburton, D., Orentreich, N. Fingerprints arches in alopecia areata. *Arch Dermatol* 110: 570-571, 1974.
8. Muller, H.K., Rook, A.J., Kubba, R. Immunohistology and autoantibody studies in alopecia areata. *Br J Dermatol* 102: 609-610, 1980.
9. Friedman, P.S. Alopecia areata and auto-immunity. *Br J Dermatol* 105: 153-157, 1981.
10. 黃霏莉, 余靖. 中醫美容學, 人民衛生出版社, pp 192-193, 1997.
11. 周鳴岐. 脫髮證治. *中醫雜誌* 27(12):47, 1986.
12. Civatte, J. Topical 2% minoxidil solution in mail pattern alopecia. The initial European Experience. *Int J Dermatol* 27: 424, 1988.
13. Schuttelaar, M.L., Hamstra, J.J., Plinck, E.P., Peereboom-Wynia, J.D., Vuzevski, V.D., Mulder, P.G., Oranje, A.P. Alopecia areata in children : treatment with diphencyprone. *Br J Dermatology* 135(4):581-585, 1996.
14. 윤정훈, 기경현, 장수진, 신민섭. 약침을 이용한 원형탈모증 치험 1예. *대한외관과학회지* 14(1):1005-1010, 2001.
15. 김경운, 서정철, 이경민, 임성철, 정태영, 한상원. 봉약침과 홍화약침을 이용한 원형탈모증 치험 1예. *대한약침학회지* 7(2):91-96, 2004.
16. 김소영, 김중호, 채병윤. 탈모에 응용되는 신응양진단의 효능에 관한 실험적 연구. *대한외관과학회지* 4(1):43-58, 1991.
17. 권강주, 이창현, 이문원, 문연자, 최두호, 이학재, 김호민, 우원홍. 사물탕가미방이 원형탈모 생쥐의 발모효과에 관한 형태학적 연구. *동의생리병리학회지* 19(3):696-704, 2005.
18. 이희삼, 문재유. Cytarabine으로 유도된 탈모증에 대한 상백피 추출물의 육모촉진 효과. *약학회지* 44(1):66-70, 2000.
19. 노현찬, 노석선. 고삼추출물이 모발성장 촉진 및 면포억제에 미치는 영향. *대한안ibi인후피부과학회지* 15(1):96-126, 2002.

20. 전국한의과대학 본초학교수편. 본초학. 서울, 영림사, pp. 448-449, 1994.
21. 박지하, 서부일. 반하의 독성에 관한 문헌적 고찰. 동서의학 25(3):47-55, 2000.
22. 강선태, 이태호. 어혈병태모형에 미치는 천궁, 석창포 및 반하의 효능에 관한 실험적 연구. 동의병리학회지 4(1):57-73, 1989.
23. 송재진. 반하가 천식모델 생쥐의 면역세포 및 사이토카인에 미치는 영향. 대전대학교 대학원, 박사학위논문, 2005.
24. Birch, D.E., Kolmodin, L., Laird, W.J., McKinney, N., Wong, J., Young, K.K.Y., Zangenberg, G.A., Zoccoli, M.A. Simplified Hot-Start PCR. Nature 381: 445-446, 1996.
25. 장해영, 최관호, 김성현 외. 탈모에 대한 문헌적 고찰. 대한약침학회지 5(2):92-108, 2002.
26. 越 佶. 聖濟總錄. 北京, 人民衛生出版社, pp 1778-1779, 1987.
27. 裴元植. 東西醫學比較 最新漢方臨床學. 서울, 남산당, pp 659-661, 1991.
28. 許 浚. 동의보감. 서울, 법민문화사, pp 793-797, 1999.
29. 巢元方. 諸病源候論校釋. 서울, 대성출판사, pp 197-200, 1992.
30. 葛正義. 血液流變學與甲皺微循環檢測對脂漏性脫髮中醫分型及治療的臨床意義. 浙江中西醫結合雜誌 21: 107, 1998.
31. 徐建榮, 朱拉珍, 陳凌風. 步長腦心通聯合銀杏葉片治療斑禿前後甲皺微循環觀察. 河北中醫, 22(1):42, 2000.
32. 許 浚. 동의보감. 서울, 법민문화사, p 800, 1999.
33. 杜錫賢. 皮膚病中醫外治療法. 北京, 中國醫藥科技出版社, pp 11, 2000.
34. 王見賓, 張毅. 斑禿外用中藥劑型. 中國醫學文摘 皮膚科學, 20(5):338-340, 2003.
35. Argyris, T.S. The effects of wounds on adjacent growing or resting hair follicles in mice. Arch Dermatol Symp 61: 31-36, 1956.
36. Argyris, T.S. Kinetics of epidermal production during epidermal regeneration following abrasion in mice. Am J Pathol 83: 329-340, 1956.
37. Lynfield, Y.L., Macwilliams, P. Shaving and hair growth. J Invest Dermatol 55: 170-172, 1970.
38. MacDonald, H.S., Cunliffe, W.J. Alopecia areata treated with diphencyprone sensitization. Clin Exp Dermatol 14: 154-157, 1989.
39. Silver, A.F., Chase, H.B., Arsenaault, C.T. Early anagen initiated by plucking compared with early spontaneous anagen. Adv Biol Skin 9: 265-286, 1969.
40. Stenn, K.S., Paus, R. Controls of hair follicle. Physiological Reviews 81: 449-494, 2001.
41. 類國壽. 發泡療法及其臨床應用. 時珍國醫國藥, 12(12):1126-1128, 2001.
42. Slominski, A., Wortsman, J. Neuroendocrinology of the skin. Endocr Rev 21: 457-487, 2000.
43. Daughaday, W.H., Rotwein, P. Insulin-like growth factors I and II. Peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum, and tissue concentrations. Endocr Rev 10: 68-91, 1989.
44. Su, H.Y., Hickford, J.G., Bickerstaffe, R., Palmer, B.R. Insulin-like growth factor 1 and hair growth. Dermatol Online J 5: 1, 1999.
45. Itami, S., Inui, S. Role of androgen in mesenchymal epithelial interactions in human hair follicle. J Invest Dermatol Symp Proc 10: 209-211, 2005.
46. Tavakkol, A., Elder, J.T., Griffiths, C.E., Cooper, K.D., Talwar, H., Fisher, G.J., Keane, K.M., Foltin, S.K., Voorhees, J.J. Expression of growth hormone receptor, insulin-like growth factor 1(IGF-1) and IGF-1 receptor mRNA and proteins in human skin. J Invest Dermatol 99: 343-349, 1992.
47. Jiang, H., Yamamoto, S., Kato, R. Induction of anagen in telogen mouse skin by topical application of FK506, a potent immunosuppressant. J Invest Dermatol 104: 523-525, 1995.
48. Pearson, A.J., Ashby, M.G., Wildermoth, J.E., Craven, A.J., Nixon, A.J. Effect of exogenous prolactin on the hair growth cycle. Exp Dermatol 8: 358-360, 1999.
49. Harada, N., Okajima, K., Arai, M., Kurihara, H., Nakagata, N. Administration of capsaicin and isoflavone promotes hair growth by increasing insulin-like growth factor-I production in mice and in humans with alopecia. Growth Hormone & IGF Research 17: 408-415, 2007.
50. Vignery, A., McCarthy, T.L. The neuropeptide calcitonin gene-related peptide stimulates insulin-like growth factor-I production by primary fetal rat osteoblasts. Bone 18: 331-335, 1996.
51. Foitzik, K., Krause, K., Nixon, A.J., Ford, C.A., Ohnemus, U., Pearson, A.J., Paus, R. Prolactin and its receptor are expressed in murine hair follicle epithelium, show hair cycle-dependent expression, and induce catagen. Am J Pathol 162: 1611-1621, 2003.