

저온용출법을 이용한 검은콩, 작약, 녹차 추출물의 두피 개선 효과

민대진[†] · 박녹현 · 황정선* · 문성호* · 이기현* · 이존환* · 안수미 · 김한곤

(주)아모레퍼시픽 기술연구원 피부과학연구소, 화장품연구소*

(2009년 2월 20일 접수, 2009년 3월 5일 수정, 2009년 3월 9일 채택)

Low-temperature Rendering Technology Applied to Extract Black Beans, Peony and Green Tea for Scalp Repair

Dae Jin Min[†], Nok Hyun Park, Jung Sun Hwang*, Sung Ho Moon*, Ki Hyun Lee*, John Hwan Lee*,
Soo Mi Ahn, and Han Kon Kim

Amorepacific Corporation R&D Center, 314-1, Bora-dong, Giheung-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do 446-729, Korea

(Received February 20, 2009; Revised March 5, 2009; Accepted March 9, 2009)

요약: 두피의 이상은 탈모, 비듬, 가려움증 등의 두피 질환으로 이어지며, 아직까지 정확한 원인이 규명되지 않은 상태여서 발병하면 치료가 쉽지 않다. 따라서 두피의 생리적인 항상성을 유지해서 두피를 건강한 상태로 유지하는 것이 두피 질환 예방 및 치료에 가장 효과적인 방법이다. 최근 두피 및 모발용 화장품 분야에서는 한의학적으로 효능이 있다고 알려진 약재들을 원료로 사용하려는 시도가 크게 증가하고 있다. 현재까지 화장품 원료로 사용되는 한약재는 대량생산과 규격화 등의 문제로 뜨거운 물에 우려낸 열수추출물을 제형에 혼합하는 형태로 사용하고 있는데, 이 과정에서 고온에 의한 영양소와 효능성분의 파괴는 불가피하다. 따라서 본 연구에서는 한의학적으로 두피 개선 효과가 있다고 알려져 있는 검은콩, 작약, 녹차 잎을 대상으로 성분파괴를 최소화할 수 있는 저온용출법으로 효능 성분을 추출하고, 이 추출물들의 두피 개선 효능을 평가하였다. 실험 결과, 저온용출물들은 열수 추출물보다 평균 2배 이상 높은 항산화력을 보유하고 있으며, 모낭 및 모발 강화, 두피 보습, 가려움 방지에 효과적임을 확인하였다. 따라서 검은콩, 작약, 녹차잎의 저온용출물은 두피 트러블을 해결하는 효과적인 두피 개선 원료로 활용될 수 있다.

Abstract: Problems with scalp lead to hair loss, dandruff, itchiness, and other illness. No clear causes of these problems have been found and it is difficult to treat them. Therefore, the best way to prevent and treat any problems with scalp is to maintain physiological homeostasis of scalp to keep it healthy. Recently, many scalp and hair product brands have attempted to use medicinal herbs which have been extracted in hot water and mixed with other ingredients due to mass-production and standardization issues. However, many nutrients and active substances are destroyed by hot-water extraction. Therefore, this study has applied low-temperature rendering to minimize destruction of substances to extract black beans, peony, and green tea that are known to improve conditions of scalp. Then, their contribution to the improvement of scalp health was assessed. In result, it was found that low-temperature rendering retains over two times greater anti-oxidizing strengths than hot-water extraction and that the extracts from low-temperature rendering effectively strengthen follicles and hair, moisturize scalp, and prevent itchiness. Therefore, low-temperature rendered black beans, peony, and green tea extracts can be used to make effective scalp treatments.

Keywords: low-temperature rendering technology, black bean, peony, green tea, human scalp

1. 서 론

두피는 모발로 덮여있는 특수화된 피부조직이다. 일반

적인 피부에서 생리적인 항상성이 깨지면 주름, 색소침착, 과증식 등의 증상들이 나타나듯이 두피에서도 다양한 증상들이 나타난다. 두피 이상으로 생기는 가장 대표적인 질환은 탈모, 비듬, 가려움증으로써 일상생활 중에 쉽게 나타나지만 치료는 쉽지 않다. 따라서 위와 같은 두

[†] 주 저자 (e-mail: djmin@amorepacific.com)

피질환의 예방 및 치료를 위해서는 두피를 건강한 상태로 유지하는 것이 무엇보다 중요하다.

검은콩(쥐눈이콩)은 껍질의 안토시아닌(anthocyanin) 성분이 두피의 혈액 순환을 원활하게 해줌으로써 탈모의 방지 및 치료에 널리 사용되고 있다[1,2]. 작약은 항산화 물질인 레스베라트롤(resveratrol)을 함유하고 있어 산화적 스트레스에 의한 두피 세포와 그로 인한 천연보습인자(natural moisturizing factor)의 파괴를 막을 수 있다[3,4]. 녹차잎의 카테킨(catechin) 성분은 남성호르몬 억제제를 통해서 모발 성장을 촉진하고[5], 항균, 항염 작용을 통해서 비듬 예방에도 도움이 된다[6].

기존의 식물 추출물들은 식물자체 또는 식물의 과쇄물을 열수를 용매로 사용하여 추출한 것들이 대부분이다. 열수 추출법은 짧은 시간에 식물 추출물을 얻을 수 있다는 장점이 있지만 고온에 의한 눈에 보이지 않는 효능 성분의 파괴는 피할 수 없다는 단점도 지니고 있다[7]. 이와 같은 문제를 해결하기 위해서 저온에서 효능 성분을 추출하려는 시도들이 많이 진행되고 있지만, 아직까지 구체적인 방법과 효능은 보고되어 있지 않은 상태이다.

따라서 본 연구에서는 검은콩, 작약, 녹차 추출물을 저온용출법과 열수법을 이용하여 각각 제조하고, 이들의 항산화력을 비교하여 추출방법에 따른 효능의 변화를 파악하려 하였다. 또한 저온추출물들을 대상으로 Wnt, peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR- γ), Substance-P assay를 실시하여 각 추출물들이 두피 개선에 줄 수 있는 효능을 확인하고자 하였다.

2. 재료 및 실험

2.1. 저온용출 추출물의 제조

저온용출 추출물은 각 원료(검은콩 100 g, 녹차잎 2.86 g, 작약 10 g)를 200 mL의 정제수에 넣은 후 실온(18 °C ~ 22 °C)에서 1 ~ 3주 동안 유지시켜서 원료의 유효성분이 정제수로 우러나오게 하는 방법을 사용하여 제조하였다. 열수 추출물은 동일 질량의 각 원료를 동일 부피의 고온(70 °C)의 정제수에서 24 h 동안 유지시켜서 제조하였다. 제조된 추출물들은 0.45 μ m filter (Milipore, USA)에 통과시켜서 원료와 오염물질들을 제거하였고, 효능 성분의 손실이 없도록 4 °C에서 냉장보관하며 실험에 사용하였다. 따라서 실험에 사용한 저온용출과 열수 추출물들의 최종 농도는 동일하며, 각 추출물들에서 고형분은 관찰되지 않았다. 또한 본 실험의 목적이 추출물들의 효능 평가에 초점이 맞춰져 있는 관계로 주성분의 정량

및 정성 분석은 수행하지 않았다.

2.2. 세포 배양

생쥐 배아섬유아세포(mouse embryonic fibroblasts)인 C3H10T1/2 cell은 American type culture collection (ACTT, Rockville, USA)에서 구입하였으며, 10 % 우태아혈청(fetal bovine serum, Lonza, USA), 100 unit/mL 페니실린-스트렙토마이신(penicillin-streptomycin, GIBCO, USA), 0.5 % non-essential amino acid (NEAA, GIBCO, USA)이 들어 있는 minimum essential medium- α (MEM- α , GIBCO, USA)에 넣고 37 °C, 5 % CO₂ 조건에서 배양하였다. 인간 각질형성세포인 HaCaT 세포와 아프리카 녹색원숭이 신장 상피세포인 CV-1 세포는 10 % 우태아혈청과 100 unit/mL 페니실린-스트렙토마이신을 첨가한 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, Lonza, USA)에 37 °C, 5 % CO₂ 조건에서 배양하였다.

2.3. 항산화 능력 측정(TEAC Assay)

Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay를 통해서 각 추출물들의 자유 라디칼(free radical) 소거 능력을 측정하여 항산화 능력을 평가하였다. 7 mM 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABST, Sigma, USA)와 2.45 mM 과황산칼륨(potassium persulfate)을 2 : 1 부피비로 섞은 후, 상온에서 12 ~ 16 h 동안 반응시켜 ABST free radical을 형성시킨다. 이렇게 얻어진 ABST 칼륨 혼합물 990 μ L에 특정 농도의 추출물 10 μ L를 넣고 상온에서 6 min 동안 반응시킨다. 최종 반응물은 734 nm에서 흡광도를 측정해서 남아있는 ASBT free radical들의 양을 측정한다. 이때 기준물질인 trolox를 사용하여 동일한 반응을 시켜 봄으로써 실험계의 정상작동 여부를 확인하고, 결과값은 추출물을 처리하지 않은 군을 대조군으로 하여 상대적인 항산화 능력을 평가하였다.

2.4. Wnt 신호전달 활성화 능력 측정(TOP-Flash Assay)

2.4.1. TOP-Flash Plasmid Vector Transfection

C3H 세포를 24-well plates에 2×10^4 cells/well의 농도로 분주하고 인큐베이터에서 하루 밤 동안 배양한다. 배양 배지를 페니실린-스트렙토마이신이 없는 배지로 교환하고, Opti-MEM (Gibco, USA) 50 μ L, TOP-Flash plasmid (Invitrogen, USA) 0.7 μ g, β -galactosidase plasmid

0.3 μg , Lipofectamine 2000 (Invitrogen, USA) 6 μL 를 반응시켜 만든 혼합액을 각 well의 세포 배양배지 위에 뿌려주는 방식으로 세포에 plasmid들을 transfection시켰다. Transfection 4 ~ 6 h 후에는 PBS로 두 번 세척하고 원래의 배양 배지로 교체 배양하여 세포의 회복을 도와주었다.

2.4.2. Luciferase Assay

Transfection 다음날 배양 배지에 추출물들을 특정 농도로 처리하고 24 h 동안 배양하였다. 배양이 끝나면 세포를 차가운 PBS로 두 번 washing하고, 세포에 reporter lysis buffer (Promega, USA)를 15 min 동안 처리하여 세포를 파괴하였다. 이렇게 얻어진 cell lysate을 microtube로 옮기고 4 $^{\circ}\text{C}$ 에서 12,000 rpm으로 3 min 동안 원심 분리하여 세포 잔여물을 분리하였다.

각 실험군의 Wnt 활성도는 정제된 cell lysate에 luciferase substrate (Promega, USA)을 4 : 1비율로 혼합하고, Luminometer (TD-20/20, Turner Designs, USA)로 방출되는 빛의 양을 측정함으로써 비교하였다. 또한 cell lysate에 동량의 2X β -galactosidase enzyme assay buffer (Promega, USA)를 처리하고 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 1 h 동안 반응시킨 후 420 nm 파장에서 흡광도를 측정함으로써 각 실험군의 β -galactosidase 활성도를 측정하였다.

각 실험군의 Wnt 활성도를 각각의 β -galactosidase의 활성도로 나누어 실험 군간 transfection 효율 차이를 보정하였으며, 이 보정값을 통계처리하여 추출물의 최종 Wnt 활성능력을 도출하였다.

2.5. PPAR- γ 활성화 능력 측정

CV-1 세포를 24-well plates에 5×10^4 cells/well의 농도로 분주하고 인큐베이터에서 하루 밤 동안 배양한다. Microtube에 DMEM (Lonza, USA) 50 μL , PPRE-*tk*-Luc plasmid 0.1 μg , PPAR- γ expression plasmid 0.01 μg , β -galactosidase plasmid 0.4 μg , 물에 1/10,000로 희석한 polyethylenimine (PEI, Sigma, USA) 수용액 1.5 μL 를 반응시켜 만든 혼합액을 각 well의 세포 배양배지 위에 뿌려주는 방식으로 세포에 plasmid들을 transfection시켰다. Transfection 다음날 특정 농도로 추출물들을 처리하고 상기 2.4.2.와 같은 방법으로 luciferase assay를 실시하여 각 추출물의 PPAR- γ 활성능력을 비교하였다.

2.6. Substance-P 발현 억제 능력 측정

사람의 각질형성세포인 HaCaT세포를 1×10^5 의 농도

로 12-well plates에 분주하여 24 h 동안 배양한 후 페놀-레드(phenol-red)가 없는 투명한 DMEM (Lonza, USA)에 2 % 우태아혈청과 100 units/mL 페니실린-스트렙토마이신이 첨가된 Substance-P assay용 배지로 교체하였다. 교체한 assay용 배지에 각 추출물들을 처리하고, 24 h 후에 ammonium laureth sulfate (ALES)를 1.0 ppm의 농도로 처리하였다. ALES 처리 24 h 후에 배지를 걷어내어 마이크로 튜브로 옮기고, 4 $^{\circ}\text{C}$ 에서 12,000 rpm으로 3 min 동안 원심분리해서 배지 내 잔여물을 제거하여 Substance-P assay에 필요한 배지를 얻었다. Substance-P assay는 준비된 세포 배지를 Substance-P ELISA kit (USCN&LIFE, USA)을 이용하여 수행하였으며, 세부 수행방법은 제조사의 지침을 따랐다.

2.7. 통계처리

실험은 3회 이상 반복하여 평균값과 표준 오차를 구하고, 미니랩 통계 소프트웨어(Minitab[®], Minitab Inc, USA)의 이표본 *t* 검정을 이용하여 데이터의 유의수준을 평가하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 저온용출법이 항산화 효능에 미치는 영향

검은콩, 작약, 녹차의 항산화 효능은 이미 보고되어 있으므로, 추출 방법에 따른 효능의 차이가 나타날 수 있는지를 알아보기 위하여 우선 저온용출물과 열수 추출물의 항산화 효능을 비교하였다. 그 결과 저온용출 추출물의 항산화 효능이 열수 추출물 보다 뛰어나며, 용출 기간에 따라 항산화력이 달라짐을 알 수 있었다(Figure 1). 이 현상은 저온용출 추출물이 열수 추출물보다 더 많은 양의 항산화 성분을 포함하며, 장기간의 저온 용출 과정 중에도 항산화 성분이 파괴되지 않음을 보여준다. 또한 저온용출법은 열수 추출 과정 중에 나타날 수 있는, 고온에 의한 superoxide dismutase (SOD), catalase와 같은 항산화 단백질들의 변성에 의한 항산화 능력 저하도 방지할 수 있는 장점이 있다.

3.2. 검은콩 저온용출물에 의한 Wnt 신호전달 활성화

Wnt 신호 전달은 개체의 발생과정에서 세포의 운명을 결정해서 조직 발달에 결정적인 역할을 한다. 또한 Wnt 신호전달은 배아 단계에서는 모낭의 발생을 유도하고 [8], 성체에서는 모낭 줄기세포의 활성을 조절해서 모발 주기와 모낭 활성화에 영향을 미친다[9].

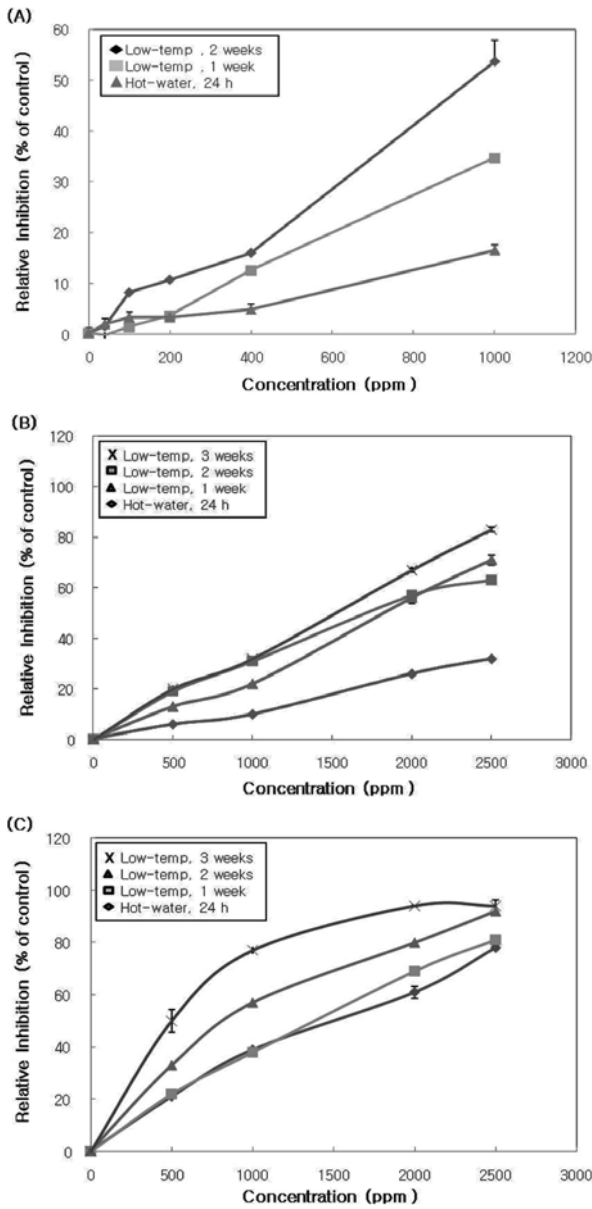


Figure 1. The differences in the radical scavenging capacity between low-temperature rendered and hot-water extracts. The radical scavenging activities of each extracts with various concentrations were measured by the TEAC assay, as described in "Materials and Methods". The values are the means of triplicate wells ± S.D. expressed as a percent of inhibition compared to control. The indicated time in the figure legend is the extraction period. (A) black bean extract, (B) peony extract, (C) green tea extract.

검은콩 저온용출물이 Wnt 신호전달을 활성화 시킬 수 있는지를 확인하기 위해서, Wnt 신호전달계가 발달되어

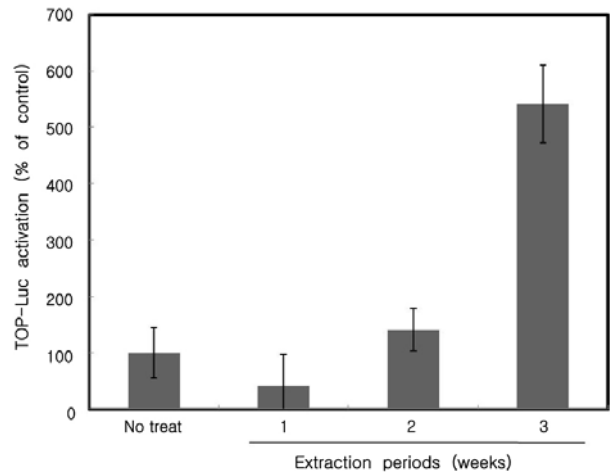


Figure 2. The effect of black bean extracts on Wnt signaling. C3H cells were transiently transfected with TOP-Flash plasmid vector and treated with 10 % of black bean extract with various extraction periods (1 ~ 3) for 24 h. After the treatment, cells were harvested and luciferase assay was performed to evaluate the Wnt signaling activation. Data represents the means ± S.D. of triplicate wells.

있는 C3H10T1/2 세포와 Wnt 신호전달 활성화를 감시할 수 있는 TOP-Flash 벡터를 이용해서 TOP-Flash assay를 수행하였다. 상기 3.1.의 실험결과에서 저온용출물들의 항산화 효능이 용출 기간에 따라 변함을 알 수 있었으므로, 1 ~ 3주차의 저온용출물들을 대상으로 Wnt 신호전달 활성화를 관찰하였다. 실험 결과 배지부피 10 %의 3주차 검은콩 저온용출물을 첨가한 배양배지를 처리한 실험군에서 대조군 대비 약 5.4배의 TOP-Flash 활성이 관찰되었으며, 이 결과는 검은콩 저온용출물이 Wnt 신호전달을 활성화 시킬 수 있음을 말해준다(Figure 2).

3.3. 작약 저온용출물에 의한 PPAR-γ 전사능력 활성화

PPAR-γ는 피부에서 각질형성세포의 성장과 분화, 지질대사 조절, 상처 치료, 염증 반응, 피지 생산, 멜라닌 합성 등 많은 반응에 관여하는데[10], 특히 표피 각질형성세포의 분화와 지질대사를 조절하여 정상적인 표피층 형성을 유도함으로써 표피의 항상성을 유지에 중요한 역할을 한다[11].

CV-1 세포와 PPRE-tk-luc vector를 이용해서 작약 저온용출물의 PPAR-γ의 trans-activation 활성화 유도 여부를 관찰하였다. 실험 결과 1 %의 1주차 작약 저온용출물을 첨가한 실험군에서 대조군 대비 약 1.5배의 PPAR-

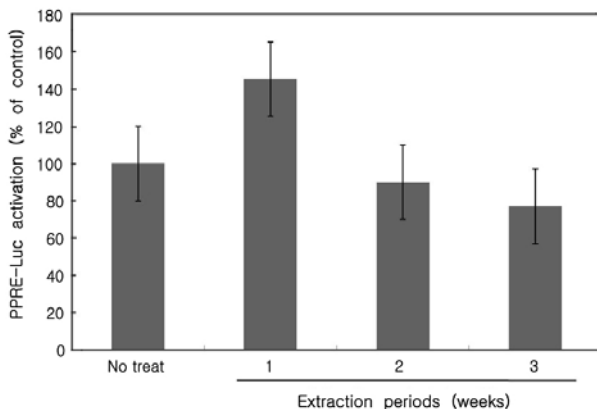


Figure 3. Transcriptional activation of PPAR- γ by peony extract. PPARE-*tk*-Luc plasmid vector was transiently transfected into CV-1 cells. Transfected cells were treated with 1 % of peony extract with various extraction periods (1 ~ 3 weeks) and assayed 24 h later for luciferase activity. The corresponding β -gal activity was used to normalize luciferase activity. Data represent the means \pm S.D. of triplicate wells.

γ 에 대한 *trans*-activation 활성화를 관찰할 수 있었다. 또한 검은콩과는 달리 작약은 저온용출 기간이 길어질수록 PPAR- γ 활성 능력이 떨어지는 것도 알 수 있었다 (Figure 3). 이 결과는 원료에 따라 최적 용출기간이 달라지며, 최대 활성을 효능을 나타내기 위해서는 최적 용출기간 산정이 필요함을 보여주고 있다.

3.4. 녹차 저온용출물에 의한 Substance-P 발현 억제

Substance P는 피부세포에서 분비되는 신경전달물질 (neurotransmitter)로써, 피부의 신경섬유를 직접 자극하거나 비만세포(mast cell)의 히스타민(histamine) 분비를 촉진해서 피부에서 가려움을 느끼게 한다[12]. 샴푸에 들어 있는 계면 활성제들은 피부에 잔류하였을 경우에 붉은 반점, 가려움 등의 피부 자극을 일으킴이 알려져 있는 바, 본 실험에서는 대표적인 계면활성제인 ALES와 녹차 냉침 추출물에 의한 피부세포에서 Substance-P의 변화를 살펴보고, 이를 토대로 녹차 냉침 추출물이 피부 가려움증을 억제 할 수 있는지를 평가하였다.

인간 각질형성세포인 HaCaT에 ALES를 1 ppm 농도로 처리한 후, 가려움 유발 인자인 Substance-P의 발현 변화를 관찰하였다. 실험 결과 ALES는 Substance-P의 발현을 대조군 대비 약 2배 정도 증가시켰지만, ALES 처리 전에 녹차 저온용출물을 처리한 실험군들에서는 발현 증가 정도가 점차 감소하는 추세가 관찰되었다. 이번

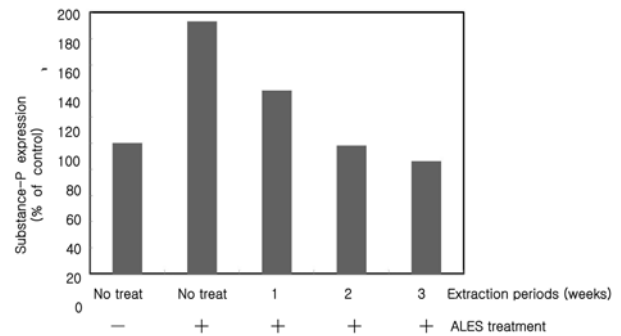


Figure 4. Inhibition of Substance-P expression by green tea extract. HaCaT cells were pretreated with 1 % of green tea extracts with various extraction periods (1 ~ 3 weeks) for 24 h. Then, 1 % of ALES was added in the medium of extract pretreated cells and incubated for another 24 h. After the treatment, the cell's medium was harvested and subjected to the Substance-P assay. The Substance-P inhibition levels were represented as a percent of both green tea extract and ALES free control.

실험에서 녹차 저온용출물의 ALES에 의한 Substance-P 발현 억제 능력은 저온용출 기간에 따라 증가하였다 (Figure 4).

4. 결 론

이번 연구는 원료에서 유효성분의 추출방법이나 기간에 따라서 추출물의 효능이 달라질 수 있는지를 살펴보고 검은콩, 작약, 녹차 저온용출물의 두피에서의 효능을 도출하는 것을 목적으로 진행되었다.

실험 결과, 저온용출법에 의한 추출물이 열수 추출물보다 평균 2배 이상으로 강화된 항산화력을 보유하며, 최고의 효능을 나타낼 수 있는 저온용출 기간은 원재료와 활성화시키려는 대상(target)에 따라서 달라짐을 알 수 있었다. 또한 검은콩 저온용출물은 모낭 주기를 조절하는 Wnt 신호전달을 활성화시켜서 모낭(모근)을 강화하고 모발을 건강하게 하는 효능, 작약 저온용출물은 각질형성세포와 피지세포의 분화를 조절하는 PPAR- γ 를 활성화 시켜서 두피 항상성 유지를 통한 내적인 보습 효능, 그리고 녹차 저온용출물은 가려움을 유발하는 염증매개인자인 Substance-P의 발현을 억제해서 두피의 가려움을 완화시키는 효능을 도출할 수 있었다.

결론적으로 검은콩, 작약, 녹차 저온용출물은 모근 강화, 보습, 가려움 완화 효능을 통해서, 두피와 모발을 모두 건

강하게 유지할 수 있게 하는 두피 개선 효능을 제공한다.

참 고 문 헌

1. T. Takahashi, T. Kamiya, and Y. Yokoo, Proanthocyanidins from grape seeds promote proliferation of mouse hair follicle cells *in vitro* and convert hair cycle *in vivo*, *Acta. Dermato. Venereologica.*, **78**(6), 428 (1998).
2. S. Christie, A. F. Walker, and G. T. Lewith, Flavonoids - a new direction for the treatment of fluid retention?, *Phytother. Res.*, **15**(6), 467 (2001).
3. C. Cao, S. Lu, R. Kivlin, B. Wallin, E. Card, A. Bagdasarian, T. Tamakloe, W. J. Wang, X. Song, W. M. Chu, N. Kouttab, A. Xu, and Y. Wan, SIRT1 confers protection against UVB- and H₂O₂-induced cell death via modulation of p53 and JNK in cultured skin keratinocytes, *J. cellular and Molecular Medicine*, published online: 4 (2008).
4. Z. Kerem, D. Chetrit, O. Shoseyov, and G. Regev-Shoshani, Protection of lipids from oxidation by epicatechin, *trans*-resveratrol, and gallic and caffeic acids in intestinal model systems, *J. Agric. Food Chem.*, **54**(26), 10288 (2006).
5. O. S. Kwon, J. H. Han, H. G. Yoo, J. H. Chung, K. H. Cho, H. C. Eun, and K. H. Kim, Human hair growth enhancement *in vitro* by green tea epigallocatechin-3-gallate (EGCG), *Phytomedicine*, **14**(7-8), 551 (2007).
6. J. M. Song and B. L. Seong, Tea catechins as a potential alternative anti-infectious agent, *Expert Rev. Anti-Infec. Ther.*, **5**(3), 497 (2007).
7. J. M. Sea and J. Y. Ahn, Biological activities of rosaceae plants extracts, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **32**, 499 (2004).
8. S. Sick, S. Reinker, J. Timmer, and T. Schlake, WNT and DKK determine hair follicle spacing through a reaction-diffusion mechanism, *Science*, **314**(5804), 1447 (2006).
9. M. Ito, Z. Yang, T. Andl, C. Cui, N. Kim, S. E. Millar, and G. Cotsarelis, Wnt-dependent *de novo* hair follicle regeneration in adult mouse skin after wounding, *Nature*, **447**(7142), 316 (2007).
10. J. N. Feige, L. Gelman, L. Michalik, B. Desvergne, and W. Wahli, From molecular action to physiological outputs: peroxisome proliferator-activated receptors are nuclear receptors at the crossroads of key cellular functions, *Prog. Lipid Res.*, **45**(2), 120 (2006).
11. M. Q. Man, A. J. Fowler, M. Schmuth, P. Lau, S. Chang, B. E. Brown, A. H. Moser, L. Michalik, B. Desvergne, W. Wahli, M. Li, D. Metzger, P. H. Chambon, P. M. Elias, and K. R. Feingold, Peroxisome-proliferator-activated receptor (PPAR) - γ activation stimulates keratinocyte differentiation, *J. Invest. Dermatol.*, **123**(2), 305 (2004).
12. P. Arck and R. Paus, From the brain-skin connection: the neuroendocrine-immune misalliance of stress and itch, *Neuroimmunomodulation*, **13**(5-6), 347 (2006).