

케라틴 펩타이드에 의한 모발 및 두피 특성 변화 연구

남 개 원^{*,**,†}

*서원대학교 바이오코스메틱학과

**서원대학교 글로벌피부임상센터

(2019년 10월 23일 접수, 2019년 11월 12일 수정, 2019년 11월 20일 채택)

Study on Changes of Hair and Scalp Characteristics by Keratin Peptides

Gaewon Nam^{*,**,†}

*Department of Bio-cosmetic Science, Seowon University, 377-3 Musimseo-ro, Seowon-gu, Cheongju 28674, Korea

**Department of Seowon Skin Research Center, Seowon University

(Received October 23, 2019; Revised November 12, 2019; Accepted November 20, 2019)

요 약: 본 연구에서는 *Fervidobacterium islandicum* AW-1를 이용하여 케라틴 펩타이드를 생산하고, 두피 및 모발에 관련된 인자를 확인하여, 화장품 원료로서 케라틴 펩타이드의 가능성을 알아보았다. 모유두 세포주에 케라틴 펩타이드를 농도에 따라 세포 독성 및 증식을 살펴본 결과, 세포 독성은 나타나지 않았고, 세포 증식에도 효과가 없었다. 케라틴 펩타이드를 함유한 헤어 샴푸, 헤어 에센스를 제조하여 인체 첩포 시험을 거쳐 무자극을 확인하였다. 30 명의 건강한 성인 피험자를 대상으로 4 주 동안 샴푸 및 에센스를 2 그룹으로 나누어 사용한 결과, 육안평가에서 윤기, 탈모, 두피 트러블, 푸석거림에서 통계적으로 유의한 긍정적 결과를 나타내었다. 두피 수분량은 샴푸와 에센스 사용 전 대비 2, 4 주 후에 통계적으로 유의한 증가를 나타내었다. 두피에 대한 경피수분손실량은 에센스를 사용한 그룹에서 사용 전 대비 4 주 후에 통계적으로 유의한 감소를 나타내었다. 두피 피지량 역시, 에센스를 사용한 그룹에서 사용 전 대비 4 주 후에 통계적으로 유의한 감소를 나타내었다. 정상 모발, 손상 모발을 이용한 헤어 샴푸와 에센스의 사용 전후의 빗질에 의한 마찰력을 측정된 결과, 사용 전 대비 모두 통계적으로 유의한 변화를 나타내었다. 정상 모발의 경우, 사용 전보다 빗질의 마찰력이 증가하였고, 손상 모발의 경우 사용 전보다 빗질의 마찰력이 감소하였다. 이를 통해 케라틴 펩타이드는 모발 및 두피 관련한 제품에 사용할 수 있는 원료로 확인하였다.

Abstract: Using *Fervidobacterium islandicum* AW-1, keratin peptides were produced and confirmed factors related to the scalp and hair. The cytotoxicity and proliferation tests as a function of the concentration of the keratin peptide did not show toxicity and effect on the cellular proliferation in the immortalized human hair dermal papilla cell line. Hair shampoos and hair essences containing keratin peptides were produced, and conducted human patch test. Result showed no skin irritation. The shampoo and the essence were applied to 2 groups of 30 healthy adults for 4 weeks and showed statistically significant positive results for gloss, hair loss, scalp trouble, and hair roughness by visual assessment. The scalp water content was significantly increased after 2 and 4 weeks compared to before using the shampoo or the essence. Trans-epidermal water loss (TEWL) and the sebum secretion amount in the scalp were significantly decreased after 4 weeks compared to before. The frictional force against combing before and after using the hair shampoo and the essence for normal hair tress and damaged hair tress was significantly changed. The combing force was increased for normal hair tress and decreased for damaged hair tress. In conclusion, we suggest that keratin peptides are appropriated as cosmetic ingredients to be used in hair and scalp related products.

Keywords: *Fervidobacterium islandicum* AW-1, keratin peptide, hair, scalp, combing

† 주 저자 (e-mail: skarod@seowon.ac.kr)
call: 043-299-8494

1. 서 론

가금류의 깃털은 시스틴(cystine)이 연결되어 있는 알파 케라틴으로 단단하게 엮여있는 불용성 단백질로 이루어진 케라틴이다[1]. 케라틴은 기본적으로 황(sulfur)을 함유한 섬유 단백질로 피부, 모발, 손톱, 깃털 및 치아 등의 주요 성분으로 케라틴 형성세포(keratinocyte)를 통해 합성되며 일반적인 단백질 분해효소로는 분해되지 않는다[2]. 황(sulfur)의 함유량에 따라 케라틴은 2가지로 나누어지는데, 소프트 케라틴(soft keratin)은 시스테인(cysteine)의 함량이 10%이하인 케라틴으로 피부의 표피에서 발견되며, 하드 케라틴(hard keratin)은 시스테인의 함량이 10~14%로서 모발, 손톱, 깃털 및 깃털에서 발견된다[3]. 가금류 중 닭의 깃털을 분해하는 효소를 생산하는 *Fervidobacterium islandicum* AW-1을 이용하여 유전자 분석을 통하여 깃털을 분해하는 대사과정을 밝힌 보고가 있고[4], 이를 통해 피부노화를 진행시키는 효소인 MMP-1(matrix metalloproteinase)을 억제하는 10 kDa 이하의 저분자 케라틴펩타이드의 아미노산 분석을 통하여 주름개선의 효능을 밝힌 보고가 있다[5].

탈모는 남녀 모든 연령에서 흔하게 나타나는 질병 또는 고민이다[6]. 탈모의 원인에 있어서 대부분 남성호르몬에 의한 탈모로 대머리가 되는 것이 흔하며 또는 스트레스, 유전에 의해 국소적 탈모 증상이 나타나기도 한다[7]. 탈모를 치료하기 위해서는 모발을 이식하거나 또는 남성호르몬을 조절하는 약을 복용 또는 도포하기도 하는데, 미국 식품의약품안전처(food and drug administration, FDA)에서 승인한 미녹시딜(minoxidil)과 피나스테라이드(finasteride)가 시장에 유통되고 있다[8]. 탈모가 일어나기 전에 두피가 건조해지거나 피지량이 증가하는 피부장벽기능이 감소하고 모발이 짧아지는 현상이 나타난다[9].

케라틴 펩타이드를 생산하는 *Fervidobacterium islandicum* AW-1을 이용하여 케라틴으로 이루어진 모발 및 두피에 영향을 알아보기 위하여 본 연구에서는 모발관련 세포 효능 시험과 인체 효력시험을 통하여 케라틴 펩타이드의 두 피 및 모발관련 효능을 확인하고자 하였다.

2. 실험 방법

2.1. 케라틴펩타이드 원료 및 제품 제조

가금류의 깃털을 얻기 위해 도계장(경상북도 거창 소재)으로부터 닭의 깃털을 수급하였다. 닭의 깃털을 수돗물로

세척한 후, 이후 진행은 보고된 논문에 따라 진행하였다 [10]. *Fervidobacterium islandicum* AW-1 (KCTC 4680)을 닭의 깃털을 0.8% (w/v)함유하는 modified thermotoga-fervidobacterium (mTF) 배지에 L 당 0.1 g NH₄Cl, 0.16 g MgSO₄ · 7H₂O, 0.9 g NaH₂PO₄ · 2H₂O, 1.6 g K₂HPO₄, 1.0 g yeast extract, 1.0 mg resazurin, 10 mL trace element solution (DSM medium 141), 10 mL vitamin solution (DSM medium 141), 3 mL 25% Na₂S · 9H₂O를 첨가하여 배양하였다[11]. 배양은 N₂ 가스상태에서 밀봉한 세럼 병을 이용하여 70 °C에서 2 일간 진행하였다. 배양 후에는 먼저 배양액 내에 남아있는 깃대 등을 제거하기 위하여 깔때기와 거름종이 (pore size - 5 μm)를 사용하여 일차 배양액 제조하였다. 이후, 원심분리(10,000 ×g, 20 min, 4 °C)를 사용하여 균체 제거 후, 배양액을 냉동고 보관한 후, 일정량이 모이면 배양액을 녹인 후 다시 원심분리(10,000 ×g, 20 min, 4 °C)를 수행 후, 상등액을 membrane filtration (pore size - 0.22 μm)을 수행하였다. 이후 96 h 동안 동결건조 진행하여, 케라틴 펩타이드 파우더 소재 확보하였다.

이렇게 얻어진 케라틴 펩타이드를 이후 모발관련 세포 효능 검증에 사용하였으며, 화장품에 사용하고자 케라틴 펩타이드 1% 용액을 미생물 challenge 시험을 거쳐 사용하기에 적합한 화장품 원료로 제조하였다. 이를 헤어 샴푸 및 에센스 제형에 1% 케라틴 펩타이드 원료(1% 용액, 100 ppm)를 함유하여 인체 적용 시험에 사용하였다.

2.2. 케라틴 펩타이드의 모발 세포 독성 및 증식 평가

세포시험에 관련한 세포주 이외에 모든 시약은 Sigma Aldrich (Merck, USA)에서 구입하여 사용하였다. 세포주는 immortalized dermal papilla cell line (SV40T-hTERT-DPC, ATCC)로써, DMEM (dulbecco's modified eagle medium) media에 10% FBS (fetal bovine serum), 1% antibiotics 조건 하에서 자라는 안정한 세포주이며, 이 세포주를 이용해 MTS assay (ab197010, Abcam, USA)를 진행하였다. 모발관련 세포의 에너지 대사를 통한 증식효과 평가는 ATP assay (CellTiter-Glo[®] luminescent cell viability assay)를 진행하였다.

2.3. 케라틴 펩타이드 제품의 인체 안전성 평가

케라틴 펩타이드 원료 및 원료를 함유한 제품에 대하여 인체 안전성 평가를 진행하였다. 식품의약품안전처 고시 '기능성화장품 심사에 관한 규정'(제2016-98호)에 따라 인체 안전성 평가를 진행하였다. 건강한 성인 피험자 35

명을 대상으로(평균 31.7 ± 10.28세) IQ Ultra Chamber (Chemotechnique Diagnostics, Sweden)를 사용한 패치 적용 시험을 진행하였다. 패치를 이용하여 원료 및 제품을 피험자의 등 부위(척추 제외)에 24 h동안 첩포를 진행하여, 패치 제거 30 min 후 1차 판정을 진행하고, 패치 제거 24 h 후 2차 판정을 진행하여 1, 2차 판정의 평균 반응도를 기준으로 하여 최종 안전성 평가를 진행하였다.

2.4. 케라틴 펩타이드 제품의 인체 효력 시험 평가

케라틴 펩타이드 원료를 함유한 헤어 샴푸 및 에센스를 제조하여 4 주 동안 사용하여 케라틴 펩타이드 원료에 대한 인체 효력 시험을 진행하였다. 건강한 성인 남녀 총 30 명을 대상으로 시험을 진행하였다(평균 연령 24.02 ± 2.54 세). 피험자를 15 명씩 헤어 샴푸(shampoo)와 헤어 에센스(essence)로 무작위 배정하여 제품을 사용하여 사용 전, 사용 2 주, 4 주 후에 육안평가 및 기기측정을 실시하였다. 육안평가 항목으로는 모발 윤기(hair gloss), 탈모(hair loss), 새치(gray hair), 두피트러블(scalp trouble), 푸석거림(hair roughness), 곱슬정도(curl hair)를 2 명 이상의 연구자가 5점 척도로 해당항목의 상태가 나쁠수록 점수가 높고, 상태가 좋을수록 점수가 낮아지는 망소특성 평가를 진행하였다(3점 보통기준). 육안평가를 위하여 제품 사용 전후 측정시기에 고해상도 디지털 카메라(EOS 70D, Cannon, Japan)을 사용하여 동일한 조건에서 촬영을 진행하였고, 모발 가르마 사진 촬영을 위하여 두피로 머리카락을 고정 후 45 ° 각도에서 두정부 촬영을 Global Hair Device (Canfield, USA)를 이용하

여 사진촬영을 진행하였다. Figure 1은 육안평가의 피험자의 제품 사용에 따른 평가 예시 사진 결과를 보여주고 있다.

기기측정 항목으로는 수분량, 피지분비량, 경피수분손실량을 평가하였다. 제품 사용에 따른 두피의 수분량 변화를 측정하기 위해서 DermaLab USB Hydration (Cortex technology, Denmark)를 이용해 진행하였으며, 3회 측정하여 평균값을 이용하였다[12]. 두피의 피지 분비량 변화를 측정하기 위하여 두피의 피지량을 Skin-O-Mat® (Sebumeter, Cosmomed, Germany)를 이용하여 측정하였다. 경피수분손실량(tans- epidermal water loss, TEWL)을 알아보기 위하여, Vapometer (Delfin, Finland)을 이용하여 측정을 진행하였다[13].

본 연구는서원대학교 임상윤리위원회에 의해 연구 수행 이전에 승인되었다(승인번호 SWHIRB-20174801).

2.5. 케라틴 펩타이드 제품의 Hair combing Force 평가

케라틴 펩타이드 원료를 함유한 제품이 건강한 모발과 손상된 모발에 미치는 영향을 평가하기 위하여 건강한 모발 다발(hair tress)을 27 cm, 2.0~2.4 g (약 1,200가닥)을 하나의 tress로 설정하였다. 손상 모발의 경우 tress에 1M NaOH를 10 min 동안 처리한 뒤, tap water로 행구어 완전히 건조한 뒤 사용하였다[14]. 대조군으로서 무처리와 샴푸 및 에센스 2개의 시험군에 각각 3개의 tress를 무작위로 배정하였다. Mtt175 (Diastron, UK)기기에 combing attachment set을 부착하여 사용하였다. Hair tress의 20~250 mm(총 23 cm) 범위를 500 mm/sec 의 속도로 총 3 회 반복

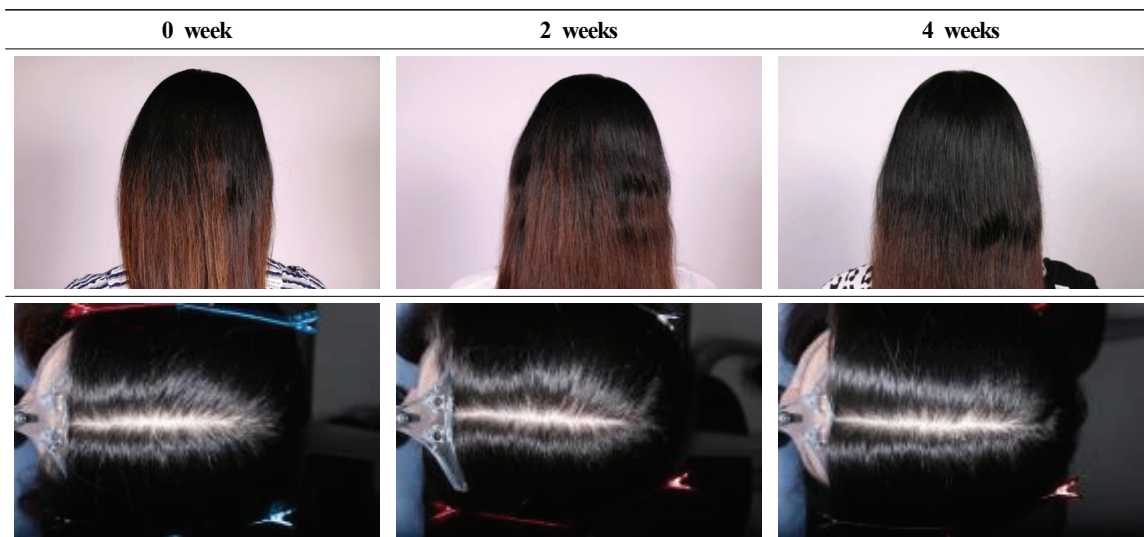


Figure 1. Examples of visual assessments for hair condition using hair shampoo and hair essence.

측정하였고, 모든 측정 전 동일한 빛으로 10 회 이상 빛어 영킨 부분이 없도록 한 뒤 측정하였다.

2.6. 통계 분석

세포 시험 및 인체효력 측정은 3 회 반복 측정을 진행하여 평균값을 구하였다. 통계 분석 결과는 95% 신뢰구간에서 유의성 여부를 확인하였다. 결과값에 대한 정규성 검증은 Kolmogorov-Smirnov, Shapiro-Wilk 방법으로 실시하였다. 사용 전후의 비교는 paired t-test를 진행하였고, 사용 전 및 사용 후 2, 4 주 분석은 두피 수분량 측정의 경우 repeated measurement(RM)-ANOVA를 육안평가 및 두피 피지량, 경피수분손실량은 one-way ANOVA 검정을 실시하였다. 통계분석 프로그램은 SPSS 23.0 (IBM SPSS Statistics, USA)을 사용하였으며, $p < 0.05$ 미만의 값은 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 케라틴 펩타이드의 모발 세포 독성 및 증식 결과

케라틴 펩타이드의 농도에 따른 모발 세포에 대한 독성 및 증식 효과를 측정한 결과 농도에 따른 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Figure 2). MTS assay를 이용한 모발 세포의 세포 독성에 대하여 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 까지도 대조군과 유사한 값을 나타내어 케라틴 펩타이드에 대한 세포 독성은 없는 것으로 판단하였다(Figure 2A). ATP assay를 통하여 모발 세포의 증식효과를 살펴보았으나, 대조군(control) 대비 농도의존적 증가를 보이지 않았고, 통계적으로 유의한 농도는 나타나지만(125 $\mu\text{g/mL}$), 양성대조군(5% FBS)의 결

과가 그다지 높게 나타나지 않아, 증식효과는 없는 것으로 판단하였다(Figure 2B). 따라서 대한민국 기능성화장품에 해당하는 탈모증상완화에 대한 제품으로서의 추가적으로 모발 관련 세포에 대한 기작을 밝히기에는 적절치 않은 것으로 판단하였다. 모발의 주성분인 케라틴에 도움을 줄 수 있는 샴푸와 에센스의 사용을 통한 모발의 생리학적, 물리학적 평가를 진행하였다.

3.2. 케라틴 펩타이드 제품의 인체 효력 시험 평가

케라틴 펩타이드 및 이를 함유한 샴푸, 에센스에서 인체접촉시험을 수행한 결과 모두 무자극으로 판정을 받았다(결과는 삽입하지 않음). 이를 통해 샴푸와 에센스를 피험자에게 4 주 동안 사용한 결과, 육안평가 결과를 Table 1에 나타내었다. 모발 윤기(hair gloss)의 경우 샴푸와 에센스를 사용한 모든 군에서 사용 2, 4 주 후에 통계적으로 유의한 결과를 나타내었다($p < 0.01$). 탈모(hair loss)의 경우 샴푸와 에센스를 사용한 모든 군에서 사용 2, 4주 후에 통계적으로 유의한 결과를 나타내었다($p < 0.05$). 새치(gray hair)의 경우 샴푸와 에센스를 사용한 모든 군에서 별다른 차이를 보이지 않았고, 두피 트러블(scalp trouble)의 경우 샴푸와 에센스를 사용한 모든 군에서 사용 4 주 후에 통계적으로 유의한 결과를 나타내었다($p < 0.01$). 모발의 푸석거림(hair roughness)에 대한 평가에서 샴푸와 에센스를 사용한 모든 군에서 사용 2, 4 주 후에 통계적으로 유의한 차이를 나타내었고($p < 0.01$), 모발의 곱슬정도(curl hair)는 샴푸 및 에센스 사용군 모두 사용 전후 차이가 나타나지 않았다.

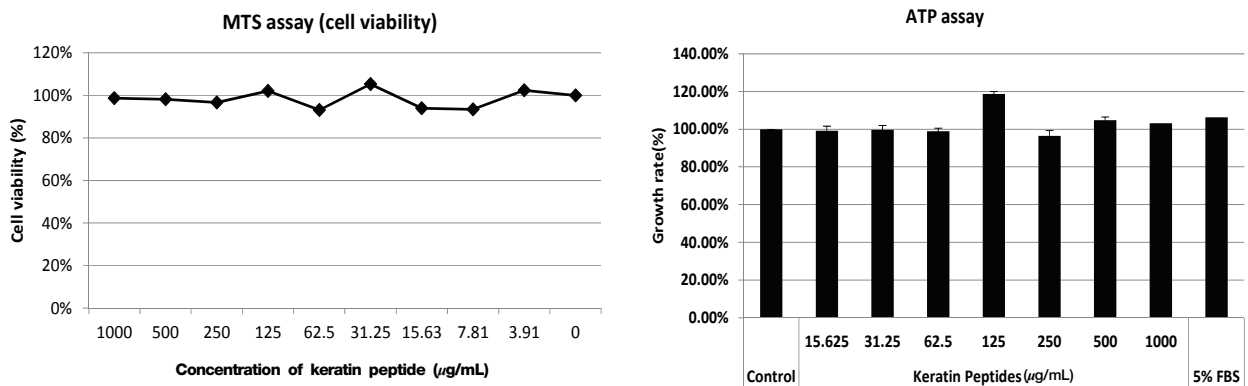


Figure 2. Results of hair dermal papilla cell cytotoxicity and growth rate treated by various concentration of keratin peptide. (A) MTS assay, (B) ATP assay.

Table 1. Results of visual assessments for hair condition using hair shampoo and hair essence(average ± standard error) 0 week vs. 2 weeks, 4 weeks, One-way ANOVA analysis, significant: **p* < 0.05, ***p* < 0.01, ****p* < 0.001

Assessment	Group	0 week	2 weeks	4 weeks
Hair Gloss	Shampoo	3.0 ± 0.17	2.4 ± 0.13***	2.2 ± 0.17***
	Essence	2.9 ± 0.18	2.3 ± 0.13**	1.8 ± 0.14***
Hair Loss	Shampoo	2.5 ± 0.19	1.6 ± 0.13***	1.5 ± 0.13***
	Essence	2.8 ± 0.22	2.4 ± 0.19*	1.7 ± 0.16***
Gray Hair	Shampoo	1.6 ± 0.25	1.2 ± 0.11	1.3 ± 0.12
	Essence	1.8 ± 0.31	1.8 ± 0.39	1.7 ± 0.32
Scalp Trouble	Shampoo	1.8 ± 0.22	1.7 ± 0.21	1.4 ± 0.16**
	Essence	2.1 ± 0.23	1.8 ± 0.17	1.5 ± 0.13**
Hair Roughness	Shampoo	2.9 ± 0.24	2.0 ± 0.17**	1.5 ± 0.17***
	Essence	2.7 ± 0.23	1.8 ± 0.14**	1.1 ± 0.07***
Curl Hair	Shampoo	2.1 ± 0.15	1.9 ± 0.12	2.0 ± 0.00
	Essence	2.0 ± 0.17	1.9 ± 0.07	2.0 ± 0.00

케라틴 펩타이드를 함유한 샴푸 및 에센스를 사용한 후 기기를 통해 측정을 진행한 결과, 두피 수분량에서 통계적으로 유의한 결과를 나타내었다(Figure 3) 샴푸를 사용한 군에서는 사용 4 주 후에 통계적으로 유의하게 두피 수분량이 증가하였으며(*p* < 0.01), 에센스를 사용한 군에서는 사용 2, 4 주 후에 통계적으로 유의하게 두피 수분량이 증가하였다(*p* < 0.05, *p* < 0.01). 두피에 대한 경피수분손실량을 측정하는 결과, 에센스를 사용한 군에서만 사용 4주 후 통계적으로 유의하게 수치가 감소하는 결과를 나타내었다(Figure 4). 마찬가지로 두피의 피지량을 측정하는 결과 에센스를 사용한 군에서만 사용 4주 후에 통계적으로 유의한 감소를 나타내었다(Figure 5).

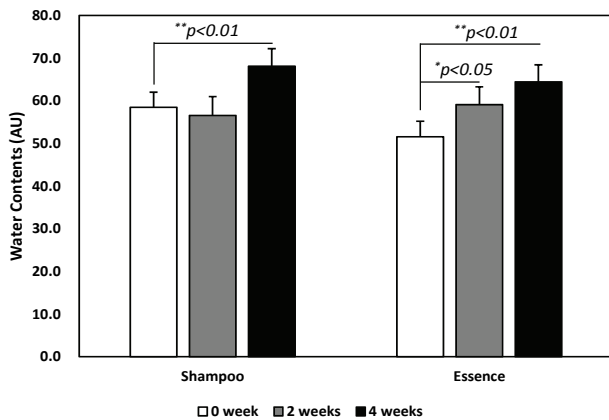


Figure 3. Results of scalp water contents for hair shampoo and hair essence during 4 weeks application.(average and standard error bar) 0 week vs. 2 weeks, 4 weeks, RM-ANOVA analysis, significant: **p* < 0.05, ***p* < 0.01.

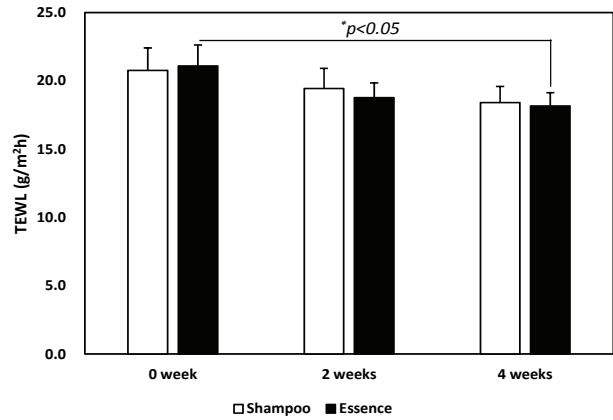


Figure 4. Results of scalp trans epidermal water loss (TEWL) for hair shampoo and hair essence during 4 weeks application.(average and standard error bar) 0 week vs. 2 weeks, 4 weeks, One-way ANOVA analysis, significant: **p* < 0.05.

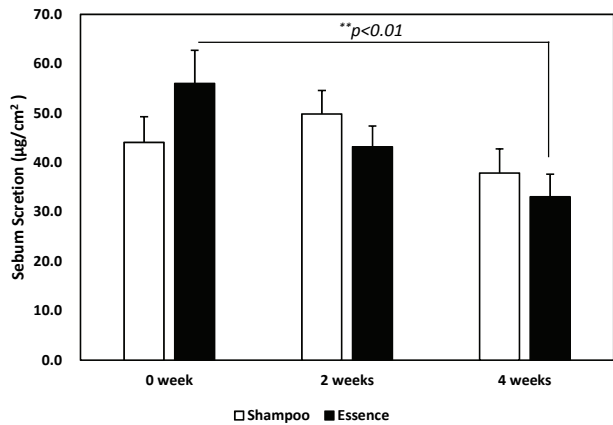
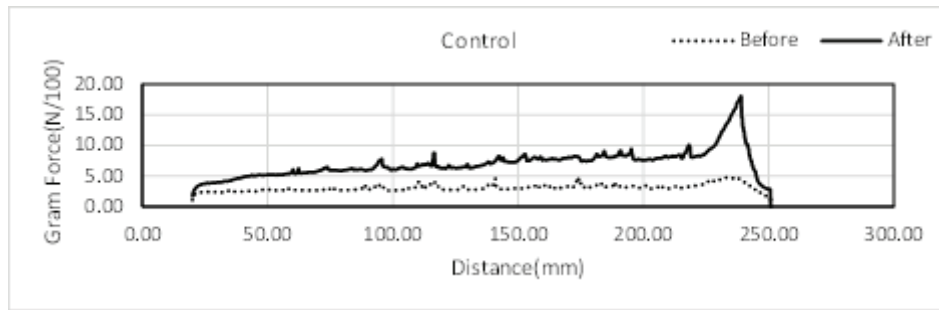


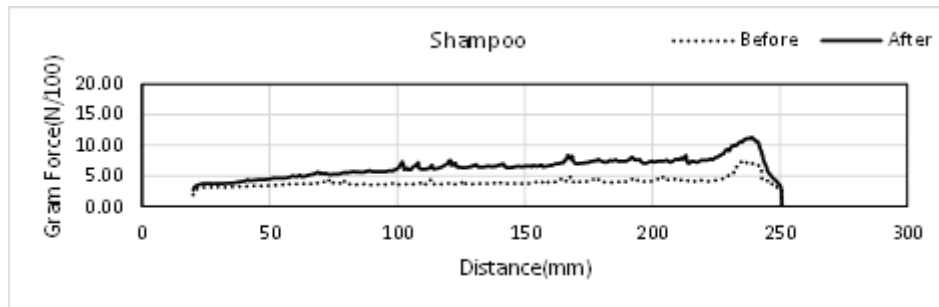
Figure 5. Results of scalp sebum secretion rate for hair shampoo and hair essence during 4 weeks application.(average and standard error bar) 0 week vs. 2 weeks, 4 weeks, One-way ANOVA analysis, significant: ***p* < 0.01.

3.3. 케라틴 펩타이드 제품의 Hair combing Force 평가

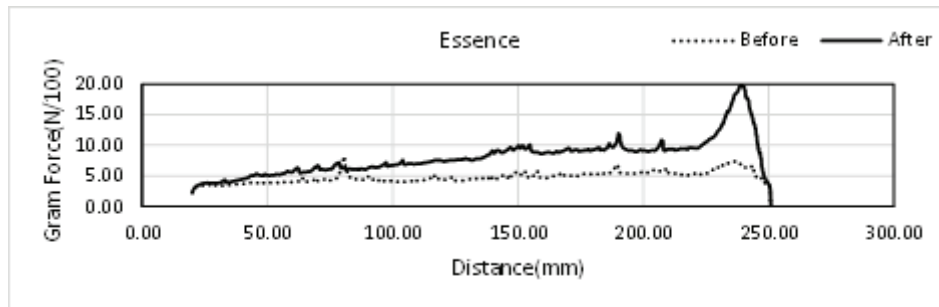
Figure 6 와 Figure 7에서 정상 모발과 손상 모발에 대한 케라틴 펩타이드를 함유한 샴푸와 에센스에 대한 combing force를 나타내었다. 모발의 combing force는 모발 사이의 마찰력과 빗과 모발 사이의 마찰력, 모발이 빗살 사이로 들어가는 힘, 빗살이 모발을 가르고 지나가는 힘에 의해 결정된다. 모발 표면이 거칠수록 모발 사이의 마찰력과 빗과 모발 사이의 마찰력이 증가하고 모발이 쉽게 엉키기 때문에 combing force가 증가하며, 모발의 양이 많을수록 combing force가 증가한다. 정상모발의 경우 사용 전 대비 모든 군에서 combing force가 증가하는 경향을 나타내었



(A)



(B)



(C)

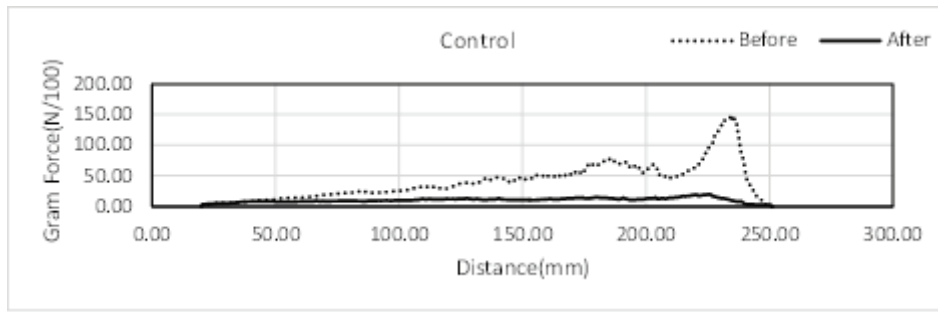
Figure 6. Results of combing force (gmf, N/100) using by control, hair shampoo and hair essence at normal hair tress. (A) control, (B) hair shampoo and (C) hair essence.

고(Figure 6), 손상 모발의 경우에는 사용 전 대비 모든 군에서 combing force가 감소하는 경향을 나타내었다 (Figure 7).

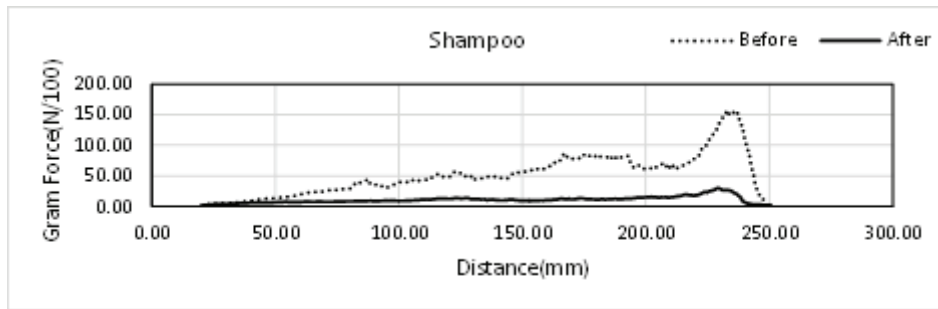
모발의 마찰력을 간접적으로 나타내는 combing force를 분석하기 위해서, end-peak force는 모발 끝 free-end의 엉킴으로 발생하는 combing force로, mid-length force는 모발 중간의 combing force로 나누어 분석하였다. End-peak과 mid-length 모두 모발 사이의 마찰력에 크게 영향을 받지

만, 빗과 모발 사이의 마찰력은 mid-length보다 end-peak에 더 큰 영향을 준다. Mid-length는 모발의 두께에 영향을 받아 모발이 두꺼울수록 증가한다. 이를 분석하여 Table 2에 나타내었다.

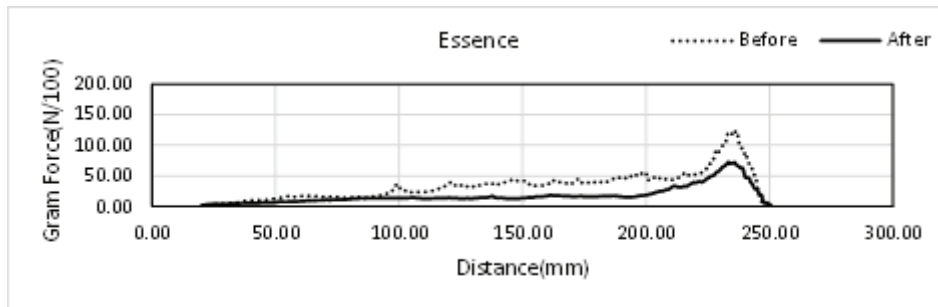
케라틴 펩타이드를 함유한 샴푸에 대한 측정 결과는 정상 모발에서 제품 적용 전 대비 제품 적용 후에 end-peak가 통계적으로 유의하게 증가하였으며($p < 0.05$), mid-length도 제품 적용 전 대비 제품 적용 후 통계적으로



(A)



(B)



(C)

Figure 7. Results of combing force (gmf, N/100) using by control, hair shampoo and hair essence at damaged hair tress. (A) control, (B) hair shampoo and (C) hair essence.

유의하게 증가하였다($p < 0.01$). End-peak와 mid-length의 합도 통계적으로 유의하게 증가하게 증가하였다($p < 0.01$). 반면 손상 모발에서는 제품 적용 전 대비 제품 적용 후에 end-peak가 통계적으로 유의하게 감소하였으며($p < 0.01$), mid-length도 제품 적용 전 대비 제품 적용 후 통계적으로 유의하게 감소하였다($p < 0.01$). End-peak와 mid-length의 합도 통계적으로 유의하게 감소하였다($p < 0.001$).

케라틴 펩타이드를 함유한 에센스에 대한 측정 결과는

정상 모발에서 제품 적용 전 대비 제품 적용 후에 end-peak가 통계적으로 유의하게 증가하였으며($p < 0.01$), mid-length도 제품 적용 전 대비 제품 적용 후 통계적으로 유의하게 증가하였다($p < 0.01$). End-peak와 Mid-length의 합도 통계적으로 유의하게 증가하게 증가하였다($p < 0.01$). 반면 손상 모발에서는 제품 적용 전 대비 제품 적용 후에 end-peak가 통계적으로 유의하게 감소하였으며($p < 0.001$), mid-length도 제품 적용 전 대비 제품 적용 후 통계적으로

Table 2. Results of combing force (gmf, N/100) for normal hair and damaged hair using products(average \pm standard error) Before vs. After, Paired t-test, significant: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

		Before	After	Before	After	Before	After
		End-peak	End-peak	Mid-length	Mid-length	End+Mid	End+Mid
Normal Hair	Control	5.03 \pm 1.88	29.30 \pm 41.05	2.22 \pm 0.68	4.79 \pm 1.40**	3.63 \pm 1.20	17.04 \pm 20.69
	Shampoo	5.77 \pm 4.94	9.34 \pm 3.26*	2.16 \pm 0.55	4.38 \pm 1.91**	3.96 \pm 2.55	6.86 \pm 2.54**
	Essence	6.19 \pm 1.61	18.59 \pm 6.69**	2.52 \pm 0.77	6.08 \pm 2.47**	4.36 \pm 1.04	12.33 \pm 4.50**
Damaged Hair	Control	157.96 \pm 86.84	17.88 \pm 3.71	44.42 \pm 26.94	9.69 \pm 2.16**	101.19 \pm 50.16	13.78 \pm 1.28**
	Shampoo	219.79 \pm 86.31	26.36 \pm 21.23***	49.06 \pm 27.45	9.63 \pm 5.04**	134.42 \pm 54.51	17.99 \pm 12.93***
	Essence	151.69 \pm 78.55	48.87 \pm 18.83**	35.29 \pm 16.23	8.54 \pm 1.33**	93.49 \pm 45.89	28.71 \pm 9.11**

유의하게 감소하였다($p < 0.01$). End-peak와 mid-length의 합도 통계적으로 유의하게 감소하였다($p < 0.001$).

4. 결 론

Fervidobacterium islandicum AW-1이 깃털을 분해하여 생산하는 케라틴 펩타이드는 일반 펩타이드와는 다른 황(sulfur)을 함유하는 희귀아미노산 함량이 많아 과거에 가축들의 영양원으로 사용되었다. 이렇게 얻어진 케라틴 펩타이드를 대부분 케라틴으로 이루어진 모발에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 모발관련 세포에 대한 시험 및 샴푸와 에센스를 제조하여 인체 효력 시험을 진행하였다.

모유두 세포주를 이용하여 케라틴 펩타이드의 농도에 따른 세포독성 및 증식능을 살펴본 결과, 세포 독성에 영향을 미치지 않았고, 세포 증식효과도 나타내지 않았다. 따라서 탈모증상에 관련한 효과는 추가적인 시험이 요구됨을 알 수 있다.

케라틴을 함유한 샴푸 및 에센스를 사용한 피험자를 대상으로 제품 사용에 따른 모발관련 육안평가를 진행한 결과, 헤어 윤기, 탈모, 두피 트러블 및 푸석거림의 인자에서 통계적으로 유의한 긍정적 효과를 나타내었다. 피험자들의 설문 및 의견에 따르면 제품을 사용하면서 탈모 증상이 완화되거나 가라앉은 머릿결이 세워진다는 의견이 있어, 육안평가결과에 일치하는 결과를 보였다.

두피 수분량, 경피수분손실량, 피지량을 측정된 결과에 따르면 두피 수분량의 증가는 샴푸와 에센스 사용한 모든 그룹에서 나타났으며, 경피수분손실량의 감소 및 두피 피지량의 감소는 에센스를 사용한 그룹에서 나타났다. 에센스를 사용한 그룹에서 두피관련 피부장벽기능의 회복 및 피지량 감소를 예상할 수 있다.

모발 다발(hair tress)을 활용하여 빗질에 따른 combing force를 측정한 결과에서 정상 모발에서는 사용 전에 비해 사용 후의 빗질에 combing force가 증가하는 경향을 나타내었다. 손상 모발에 있어서는 사용 전에 비해 사용 후의 빗질에 combing force가 감소하는 경향을 나타내었다. 피험자들의 설문 및 의견에 따르면 염색이나 탈색을 하지 않은 피험자에 있어서 제품 사용 후 머리카락이 뺏뺏해진다는 의견이 있고, 염색이나 탈색을 한 피험자에 있어서는 제품 사용 후 머리카락이 부드러워졌다는 의견이 있는데, 이러한 결과와 경향과 유사한 것을 볼 수 있다. 특히 모발의 미찰력을 간접적으로 나타내는 combing force를 정량화하기 위해 end-pick와 mid-length를 분석한 결과 정상 모발에서는 제품 사용 후 통계적으로 유의하게 combing force가 증가한 것을 나타내었고, 손상 모발에서는 제품 사용 후 통계적으로 유의하게 combing force가 감소하는 것을 나타내었다.

이러한 연구 결과를 바탕으로 케라틴 펩타이드를 함유한 모발 및 두피 관련 제품인 샴푸와 에센스에서 제품 사용에 따른 인체 효력 시험 인자의 개선 및 피험자들의 인지 효능에 대한 개선의 연관성을 볼 수 있었다. 본 연구를 통하여 케라틴 펩타이드는 헤어 관련 제품에 활용의 가능성 및 효과를 기대할 수 있었다. 또한 combing force와 같은 측정을 통하여 제품 소비자가 실제로 인지하는 효과에 관련한 정량적 인자를 제공할 수 있을 것으로 예상된다.

Reference

1. D. A. Parry, W. G. Crewther, R. D. Fraser, and T. P. MacRae, Structure of α -keratin : structural implication of the amino acid sequences of the type I and type II

- chain segments, *J. Mol. Biol.*, **113**(2), 449 (1977).
2. B. Wang, W. Yang, J. McKittrick, and M. A. Meyers, Keratin: Structure, mechanical properties, occurrence in biological organisms, and efforts at bioinspiration, *Progress in Materials Science.* **76**, 229 (2016).
 3. J. Henry, E. Toulza, C. Y. Hsu, L. Pellerin, S. Balica, J. Mazereeuw-Hautier, C. Paul, G. Serre., N. Jonca, and M. Simon, Update on the epidermal differentiation complex. *Front Biosci* (Landmark Ed), **17**, 1517 (2012).
 4. Y. J. Lee, H. Jeong, G. S. Park, Y. Kwak, S. J. Lee, M. K. Park, J. Y. Kim, H. K. Kang, J. H. Shin, and D. W. Lee, Genome sequence of a native-feather degrading extremely thermophilic Eubacterium, *Fervidobacterium islandicum* AW-1. *Stand Genomic Sci.*, **29**(10), 71 (2015).
 5. H. S. Jin, K. Song, J. H. Baek, J. E. Lee, D. J. Kim, G. W. Nam, N. J. Kang, and D. W. Lee, Identification of matrix metalloproteinase-1-suppressive peptides in feather keratin hydrolysate, *J. Agric. Food Chem.*, **66**(48), 12719 (2018).
 6. J. U. Adams, Raising hairs, *Nat. Biotechnol.*, **29**(6), 474 (2011).
 7. K. S. Stenn, S. Parimoo, Y. Zheng, T. Barrows, M. Boucher, and K. Washenik, Bioengineering the hair follicle, *Organogenesis*, **3**(1), 6 (2007).
 8. K. S. Stenn, G. Cotsarelis, Bioengineering the hair follicle: fringe benefits of stem cell technology, *Curr. Opin. Biotechnol.*, **16**(5), 493 (2005).
 9. K. S. Stenn, and R. Paus, Controls of hair follicle cycling, *Physiol. Rev.*, **81**(1), 449 (2001).
 10. G. W. Nam, D. W. Lee, H. S. Lee, N. J. Lee, B. C. Kim, E. A. Choe, J. K. Hwang, M. T. Suhartono, and Y. R. Pyun, Native-feather degradation by *Fervidobacterium islandicum* AW-1, a newly isolated keratinase-producing thermophilic anaerobe, *Arch. Microbiol.*, **178**(6), 538 (2002).
 11. H. S. Jin, S. Y. Park, K. Kim, Y. J. Lee, G. W. Nam, N. J. Kang, and D. W. Lee, Development of a keratinase activity assay using recombinant chicken feather keratin substrates, *PLoS ONE*, **12**(2), e0172712 (2017).
 12. W. Hua, L. M. Fan, R. Dai, M. Luan, H. Xie, A. Q. Li, and L. Li., Comparison of two series of non-invasive instruments used for the skin physiological properties measurements: the DermaLab[®] from Cortex Technology vs. the series of detectors from Courage & Khazaka, *Skin Res Technol.* **23**(1), 70 (2017).
 13. K. De Paepe, E. Houben, R. Adam, F. Wiesemann, and V. Rogiers, Validation of the VapoMeter, a closed unventilated chamber system to assess transepidermal water loss vs. the open chamber Tewameter[®], *Skin Res Technol.*, **11**(1), 61 (2005).
 14. Y. K. Kamath, H. D. Weigmann, Measurement of combing forces, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **37**, 111 (1986).