

녹용 발효 케라틴 펩타이드에 의한 인체 모발 연구

남 개 원^{*,†}

*서원대학교 바이오코스메틱학과

(2022년 12월 7일 접수, 2022년 12월 28일 수정, 2022년 12월 30일 채택)

Study on Effect of Human Hair by Deer Antler Fermented Keratin Peptide

Gaewon Nam^{*,†}

*Department of Bio-cosmetic Science, Seowon University, 377-3 Musimseo-ro, Sewon-gu, Cheongju 28674, Korea
(Received December 7, 2022; Revised December 28, 2022; Accepted December 30, 2022)

요약: 본 연구에서는 녹용에 함유한 단백질인 케라틴을 *Fervidobacterium islandicum* AW-1로 고온 혐기 발효를 통하여 케라틴 펩타이드를 생산하고, 인체 모발 관련한 인자를 확인하여, 화장품 원료로서 케라틴 펩타이드의 가능성을 확인하였다. 모유두 세포주에서 녹용 발효 케라틴 펩타이드를 농도에 따라 세포 독성 및 증식을 확인한 결과, 세포 독성은 나타나지 않았고, 세포 증식 효과를 보였다. 인체 모유두 세포에 대하여 녹용 발효 케라틴 펩타이드에 따른 성장인자의 증가를 확인하여 모발에 영향을 준다고 판단하였다. 이러한 녹용 발효 케라틴 펩타이드를 함유한化妆품을 제조하여 피부 안전성 및 탈모 증상 완화 인체 효력 시험을 수행한 결과, 사용 12 주 후에 제품 사용 전 대비 전체 모발 수의 증가 및 대조군과 비교시 전체 모발 개수의 차이가 통계적으로 유의하게 나타났다. 이를 통해 녹용 발효 케라틴 펩타이드는 기능성 화장품 원료뿐만 아니라 건강 기능 식품 소재로의 가능성을 확인하였다.

Abstract: In this study, keratin peptides were produced through high-temperature anaerobic fermentation of keratin, a protein contained in deer antler, with *Fervidobacterium islandicum* AW-1, and factors related to human hair, confirming the possibility of keratin peptides as cosmetic ingredients. As a result of the cytotoxicity and proliferation of deer antler fermented keratin peptide according to the concentration in the dermal papilla cell line, cytotoxicity was not observed and the cell proliferation effect was shown. For human dermal papilla cells, statistically significant increasing in growth factors according to the deer antler fermented keratin peptide was determined possibility of effects on hair growth. Cosmetic products containing deer antler fermented keratin peptides were manufactured and skin safety and anti hair loss efficacy clinical tests were conducted. As a result, after 12 weeks of use, the total number of hairs statistically significant increased compared to before using the product and the difference in total number of hairs compared to the control group was found. In conclusion, we suggest that the possibility of fermented deer antler keratin peptide as a cosmeceutical ingredient as well as a health functional food material was confirmed.

Keywords: *fervidobacterium islandicum aw-1*, deer antler, keratin peptide, hair, dermal papillar cell

† 주 저자 (e-mail: skarod@gmail.com)
call: 043-299-8494

1. 서 론

천연에 존재하거나 천연물로부터 얻어지는 생물 활성 펩타이드(bioactive peptide, BP)는 신체 기능이나 상태에 긍정적인 영향을 미치는 특정한 단백질 조각으로 인체에 다양한 방향으로 영향을 줄 수 있다[1]. BP는 단백질이 풍부한 천연물에서 많이 추출되거나 얻어지는데 이러한 펩타이드는 합성을 통한 펩타이드와 다른 차별화 된 특징을 갖고 있다. 다른 화학 용매에 대한 안정성이 우수하고 피부 또는 조직에 대한 생리활성(기능성)이 매우 우수하며, 특이적 아미노산 서열을 통하여 생체 친화적이며 비교적 생산 비용이 저렴하다고 알려져 있다[2]. 생물 활성 펩타이드를 얻는 방법으로 여러 가지가 있으나, 최근 미생물 발효로 얻어지는 친환경적 생산공정이 각광받고 있다[3]. 식품으로 섭취가 가능한 유산균이나, 다른 미생물 발효는 다양한 단백질을 기질로 하여 여러 펩타이드 종류를 얻을 수 있으며, 이러한 방법이 최근 안심, 안전을 추구하는 트렌드와 맞물려 많은 연구들이 진행되고 있다[4].

피부 세포에 존재하는 섬유 단백질 중 하나인 케라틴은 기본적으로 황(sulfur)을 함유하고 있으며 피부, 모발, 손톱, 뿔 및 치아 등의 주요 성분으로 케라틴 형성세포(keratinocyte)를 통해 합성되며 일반적인 단백질 분해효소로는 분해되지 않는다[5]. 황(sulfur)의 함유량에 따라 케라틴은 2 가지로 나누어지는데, 소프트 케라틴(soft keratin)은 시스테인(cysteine)의 함량이 10% 이하 인 케라틴으로 피부의 표피에서 발견되며, 하드 케라틴(hard keratin)은 시스테인의 함량이 10 ~ 14%로서 모발, 손톱, 깃털 및 사슴 뿔(녹용 및 녹각)에서 발견된다[6].

화산 지대에서 채취한 고온 혐기성 미생물인 *Feravidobacterium islandicum* AW-1 (*F. islandicum* AW-1)은 유전자 분석을 통해 닭털의 케라틴 성분을 분해하는 대사 과정을 밝힌 연구 결과가 존재하며[7], 이를 통해 항노화 효소인 MMP-1 (matrix metalloproteinase)을 억제하는 10 kDa 이하의 저분자 케라틴펩타이드의 아미노산 분석을 통하여 주름 개선 및 미백 활성의 효능 가능성을 밝힌 보고가 있다[8-12].

본 연구에서는 *F. islandicum* AW-1을 이용하여 케라틴으로 이루어진 녹각 및 녹용을 추출하고 남은 녹용박을 분해하여 케라틴 펩타이드를 생산한 후, 기능성 화장품 원료 중의 하나인 탈모 증상 완화에 관련한 효능을 알아보고자 하였다. 이를 위해 모발 관련 세포의 증식 및 성장인자를 살펴보고, 녹용 발효 케라틴 펩타이드를 함유한 화장품을

제조하여 인체 효력 시험을 통한 탈모 증상 완화 효과를 확인하고자 하였다.

2. 실험 방법

2.1. 녹용 발효 케라틴 펩타이드 원료 및 제품 제조

실험에 사용된 녹용은 청주 육거리시장에서 구입한 러시아산(Russia) 녹각(혈두, antler)와 (주뉴트릭스(Korea)에서 녹용을 추출하고 남은 찌꺼기인 녹용박(velvet cake)을 이용하였다. 수집한 녹용은 보고된 논문[7]에 따라 발효를 진행하였다[7]. *F. islandicum* AW-1 (KCTC 4680)을 녹각과 녹용박을 0.8% (w/v)함유하는 modified thermo-togafervidobacterium (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[8]. 배양은 N₂ 가스 상태에서 밀봉한 세립 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. 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 동결건조를 진행하여 녹용 발효 케라틴 펩타이드 파우더 소재를 확보하였다.

확보한 녹용 발효 케라틴 펩타이드는 인체 모유두 효능 검증에 사용하였으며, 화장품에 사용하고자 미생물 challenge 를 거쳐 사용하기에 적합한 화장품 원료로 제조하였다. 이를 헤어 토너 제형에 0.1 % 첨가(녹용 발효 케라틴 펩타이드 1.0 % 용액 기준) 제조하여 인체적용시험에 사용하였다.

2.2. 녹용 발효 케라틴 펩타이드의 모발 세포 독성 및 증식 평가

세포시험에 관련한 세포주 이외에 모든 시약은 Sigma (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 안정적인 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. 녹용 발효 케라틴 펩타이드의 모발 관련 성장인자 평가

모발 관련 탈모 증상 완화 관련 세포 시험 평가로 인체 모유두 세포(human dermal papilla cell) 배양 모델을 이용한 대표적 성장 인자 4 종인 insulin-like growth factor-1 (IGF-1), platelet-derived growth factor (PDGF), fibroblast growth factor-10 (FGF-10), vascular endothelial growth factor (VEGF)를 선정하여 해당 인자의 발현을 평가하였다[13-15]. 본 시험에 사용한 세포는 인체 피부 유래 모유두 세포(primary human dermal papilla cells, ScienCell, Carlsbad, USA)를 사용하였으며, 12 well plate에 5×10^4 cells/well로 접종하여 시험을 진행하였다. 인체 피부 유래 모유두 세포 배양 모델을 이용한 기존의 연구 보고를 바탕으로 탈모 증상 완화와 관련된 것으로 알려진 바 있는 성장인자인 IGF-1(insulin growth factor-1, ab223567, Abcam Plc, UK), PDGF (platelet-derived growth factor, YF-PA13684, Abfrontier, Korea), FGF-10 (fibroblast growth factor-10, SC-293208, Santa Cruz Biotechnology, USA), VEGF (vascular endothelial growth factor, LF-PA50075, Abfrontier, Korea)를 선정하여 시험을 진행하였다[16-21]. 인체 피부 유래 모유두세포는 2.5% FBS와 mesenchymal stem cell growth supplement, antibiotics (10 units/mL Penicillin, 100 g/mL Streptomycin)이 첨가된 mesenchymal stem cell medium에 접종한 후, 37 °C, 5% CO₂ 배양기 내에서 배양하였다. 모유두세포를 12 well plate에 5×10^4 cells/well로 접종한 후, 세포 배양 조건에서 24 h 동안 배양하였다. 배양 배지를 제거하고, PBS 완충액으로 세포를 세척한 후, 시험 물질이 포함된 배지를 투입하여 48 h 배양하였다. 세포 독성이 나타나지 않는 범위로 확인된 녹용 발효 케라틴 펩타이드 (Antler keratin peptide, AKP), 녹용박 발효 케라틴 펩타이드 (Velvet cake keratin peptide, VKP)의 경우 0.005%, 0.01%, 0.02%의 농도로 농도 의존성을 확인할 수 있도록 하였다. 시험 물질의 처리가 끝난 세포를 증류수로 희석한 Sample buffer를 이용하여 회수하고, 100 °C heat block으로 10 min 동안 가열하여 denaturation을 시행하고, ice에 방치하여 식힌 후, 원심 분리하여 세포를 회수한 후 -80 °C에 보관하고, 이후 실험에 사용하였다. 15% acrylamide SDS running gel과 stacking gel에 세포 lysate

를 20 mL씩 loading 한 후, 단백질 분리를 시행한다. 분리된 단백질은 PVDF membrane에 transfer를 시행하고, 5% BSA를 포함하는 TBSt 완충액을 이용하여 상온에서 1 h 동안 blocking을 시행하였다. Blocking 이 끝나면 검출하고자 하는 성장인자에 대한 항체를 권장 농도로 희석한 용액을 가하고, 4 °C rocker에서 24 h 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 membrane은 TBSt 완충액으로 10 min 동안 3 회 세척한 후, 이차 항체를 상온에서 1 h 동안 반응시켰다. 이차 항원 반응이 마무리된 membrane은 TBSt 완충액으로 5 min 간 6 회 세척하고, 증류수로 2 ~ 3 회 세척한 후, Amersham ECL Prime Western Blotting Detection Reagent (Cytiva Life Science, USA)를 이용하여 발광하고, Alliance Mini HD6 (Uvitec Limited, UK)장비를 이용하여 단백질 발현량을 촬영, 분석하였다. 각각의 시료 별로 β -actin 발현량 대비 각 성장인자의 발현량을 계산한 후, 해당 값을 무처리군의 계산값과 비교하여 분석을 진행하였다.

2.4. 녹용 발효 케라틴 펩타이드 및 함유 제품의 인체 안전성 평가

녹용 발효 케라틴 펩타이드 원료 및 원료를 함유한 헤어 토너 제품에 대하여 인체 안전성 평가를 실시하였다(IRB 승인번호: 2020021201-202204-HR-002-01). 식품의약품안전처 고시 ‘기능성화장품 심사에 관한 규정(제2019-47호)’에 따라 인체 안전성 평가를 실시하였다. 건강한 남녀피험자 33 명을 대상으로(평균 33.8 ± 10.55 세), IQ Ultra Chamber (Chemotechnique Diagnostics, Sweden)를 사용한 패치 적용 시험을 진행하였다. 패치를 이용하여 원료 및 제품을 피험자의 등 부위(척추 제외)에 24 h 동안 첩포를 진행하여, 패치 제거 30 min 후 1 차 판정을 진행하고, 패치 제거 24 h 후 2 차 판정을 진행하여 1, 2 차 판정의 평균 반응도를 기준으로 하여 최종 안전성 평가를 진행하였다.

2.5. 녹용 발효 케라틴 펩타이드 제품의 탈모 증상 완화 인체 효력 시험 평가

인체 효력 시험을 위하여, (주)유로핀즈씨알에이 임상윤리위원회에 의해 연구 수행 이전에 승인되었으며(IRB 승인번호: 2020021201-202204-HR-002-01), 18 ~ 54 세의 안드로젠성 탈모증으로 진단된 남녀 피험자를 선정하였는데, 선정 기준은 1) Basic and Specific (BASP) 분류에 의해 basic type은 M1 이상 또는 C1 이상 또는 U1 이상으로 진단된 남녀 안드로젠성 탈모증 피험자로서, specific type은

V1 이상 또는 F1 이상으로 진단된 남녀 안드로겐성 탈모증 피험자, 2) Norwood-Hamilton 분류에 의해 2 또는 2A 이상으로 진단된 남성 안드로겐성 탈모증 피험자, 3) Ludwig 분류에 의해 Grade I 이상으로 진단된 여성 안드로겐성 탈모증 피험자를 대상으로 하였다. 녹용 발효 케라틴 펩타이드를 함유한 헤어 토너(시험군, test)와 녹용 발효 케라틴 펩타이드를 함유하지 않은 헤어 토너(대조군, control)를 제조한 후, 시험군 및 대조군 각 24 명의 피험자를 대상으로 12 주 동안 사용하게 하여 녹용 발효 케라틴 펩타이드 원료에 대한 탈모 증상 완화 인체 효력 시험 평가를 진행하였다. 시험 동의서에 서명하고 선정 및 선정 제외 기준에 따라 최종 선정된 피험자는 제품 사용 전(0 주) 평가 시점으로부터 1 ~ 2 주 전 시험부위에 직경 약 1 mm의 점 문신을 실시하였다. 피험자는 제품 사용 전(0 주)에 제품 사용 설명서와 제품을 받아 12 주간 사용하였다. 평가 시점은 제품 사용 전(0 주), 제품 사용 후 6 주, 12 주 차로, 각 평가 시점에 피험자는 시험기관을 방문하여 기기 측정 및 설문 평가하였다. 평가 방법으로 평가하고자 하는 탈모 부위의 점 문신을 중심으로 1 cm² 원내의 모발을 균일하게 삭모한 뒤 촬영 장치인 Folliscope[®] 5.0 (LeadM, Korea)로 14 배 확대 촬영하였다. 포토트리코그램 방법으로 제품 사용 전(0 주), 제품 사용 후 6 주, 12 주차의 전체 모발 수(1 cm² 원내의 모발 수)를 분석하였다.

2.6. 통계 분석

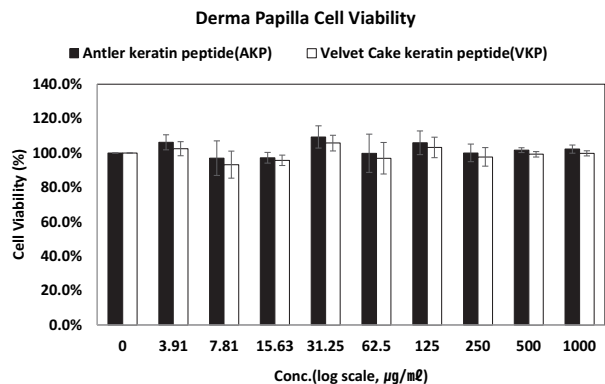
세포 시험은 3 회 반복 측정을 진행하여 평균값을 구하였다. 통계 분석 결과는 95% 신뢰구간에서 유의성 여부를 확인하여 paired t-test와 non-parametric Mann-Whitney U-test를 진행하여 p < 0.05 유의수준으로 검증하였다. 인체 효력 시험의 경우, 정규성은 Shapiro-Wilk test를 통해 검정하였으며, 정규성을 만족하면 모수 검정, 정규성을 만족하지 않으면 비모수 검정을 실시하였다. 피험자의 무작위 배정이 효과적으로 되었는지 평가하기 위하여 피험자의 연령, 제품 사용 전(0 주) 전체 모발 수, 두피 및 모발 특성에 대한 군간 동질성을 검정하였다. 군간 동질성 검정은 독립적인 두 군간의 비교를 위하여 정규성 검정 후 정규성을 만족하면 independent t-test, 정규성을 만족하지 않으면 Mann-Whitney U test를 실시하였고, 통계학적 유의수준은 p-value가 0.1 초과일 때 동질하다고 판단하였다. 전체 모발 수는 정규성 검정 결과 유의확률 0.05 이상으로 정규성을 만족하여 모수 검정하였다. 제품 사용 전후 비교는 모수 검정인 paired t-test 하였고, 군간 비교는 전체 모발 수

변화량(제품 사용 전(0 주)과 제품 사용 후 6 주, 12 주차의 전체 모발 수 차이값(Δ))에 대하여 평가시점 및 군에 따른 종속변수로서 분산분석(Repeated measure ANOVA)하였다. 통계분석 프로그램은 SPSS 28.0 (IBM SPSS Statistics, USA)을 사용하였으며, p < 0.05 미만의 값은 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

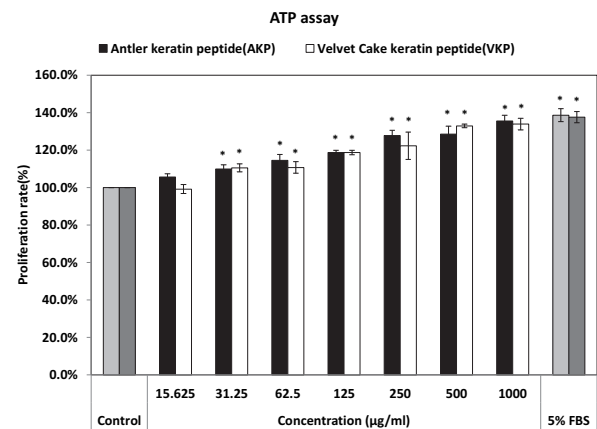
3. 결과 및 고찰

3.1. 녹용 발효 케라틴 펩타이드의 모발 세포 독성 및 증식 평가

녹각 발효 케라틴 펩타이드(antler keratin peptide, AKP)



(A)



(B)

Figure 1. Result of immortalized dermal papilla cell line (SV40T-hTERT-DPC, ATCC) cytotoxicity, proliferation activity by various concentration of antler keratin peptide and velvet cake keratin peptide (average and standard error bar) paired t-test, control vs. concentrations, significant: *p < 0.05. (A) Cell viability assay, (B) ATP assay.

와 녹용박 발효 케라틴 펩타이드(velvet cake keratin peptide, VKP)의 농도에 따른 세포독성시험 결과, 시험에 사용된 모든 농도에서 세포생존율이 90% 이상 나타나 세포 독성이 없음을 확인하였다(Figure 1A). ATP assay를 통하여 모유두 세포주의 증식효과를 확인한 결과, 농도 의존적으로 증식효과를 확인할 수 있었다(Figure 1B). 이를 통해 모발 관련 세포 수준에서 녹용 발효 케라틴 펩타이드는 세포 독성이 없으며, 모발 세포 증식 효과를 확인하였다.

3.2. 녹용 발효 케라틴 펩타이드의 모발 관련 성장인자 평가

인체 피부 유래 모유두 세포를 대상으로 녹각 발효 케라틴 펩타이드(AKP)와 녹용박 발효 케라틴 펩타이드(VKP)의 농도에 따른 모발 관련 성장인자에 대한 효과를 살펴본 결과, 녹각 발효 케라틴 펩타이드는 통계적으로 유의적인 차이를 보이지는 않았지만, 0.02% (w/v) 농도에서 IGF-1, PDGF, FGF-10, VEGF에서 증가하는 경향을 보였다(Figure 2A). 녹용박

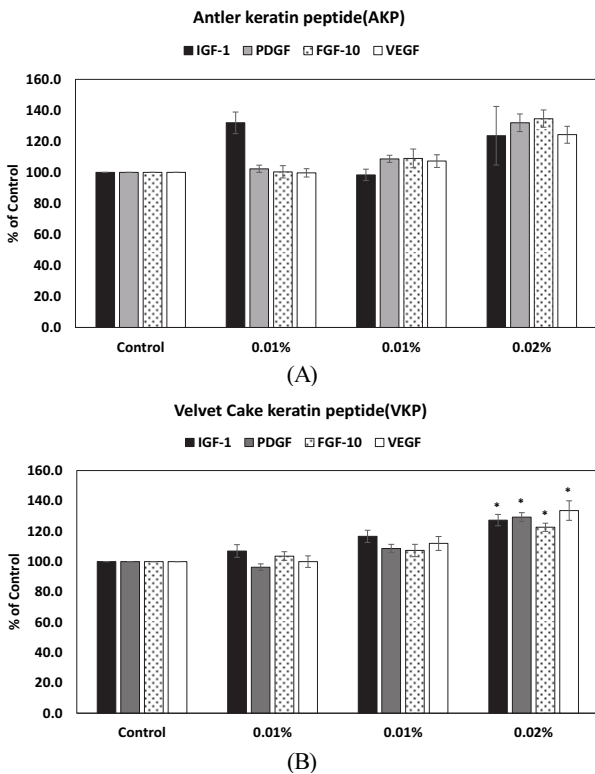


Figure 2. Result of human dermal papilla cell growth factors expression by IGF-1, PDGF, FGF-10 and VEGF(average and standard error bar) paired t-test, control vs. concentrations, significant: *p < 0.05. (A) Antler keratin peptide, (B) Velet cake keratin peptide.

발효 케라틴 펩타이드에서는 통계적으로 유의하게 0.02%(w/v)에서 음성대조군 대비 IGF-1, PDGF, FGF-10, VEGF의 성장인자를 증가하는 결과를 얻었다(Figure 2B).

3.3. 녹용 발효 케라틴 펩타이드 제품의 탈모 증상 완화 인체 효력 시험 평가

녹용 발효 케라틴 펩타이드 원료 및 원료를 함유한 인체 안전성 평가를 33 명의 성인 피험자를 대상으로 수행한 결과, 무지극으로 판정되었다(결과는 나타내지 않음). 식품 의약품안전처 탈모증상완화 가이드라인에 따른 인체효력 시험 평가에 있어서, 녹용 발효 케라틴 펩타이드를 함유한 헤어 토너를 12 주간 제품 사용한 결과를 대조군과 비교하

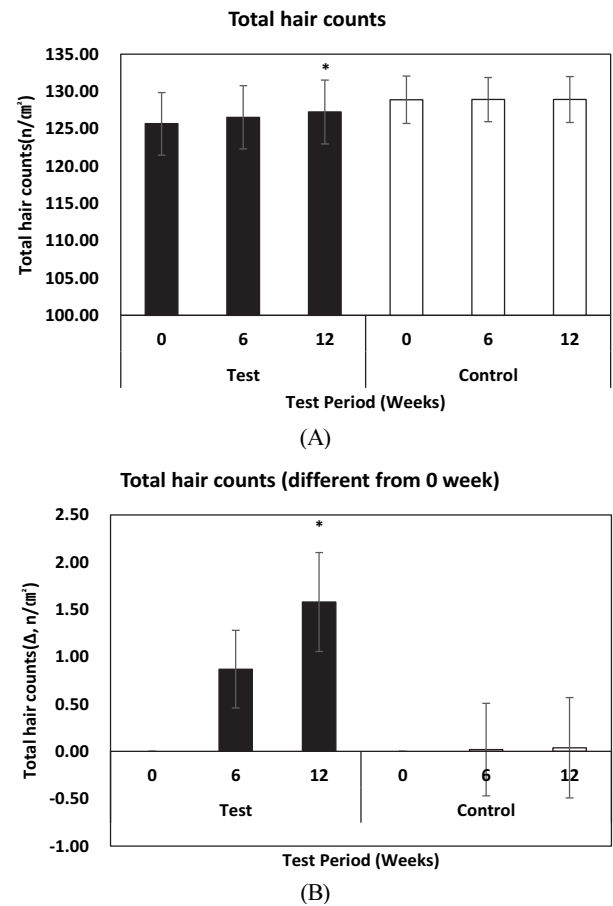


Figure 3. Result of total hair counts using hair toner test and control group for 12 weeks(average and standard error bar). (A) total hair counts, 0 week vs. 6 weeks, 12 weeks, paired t-test analysis, significant: *p < 0.05., (B) total hair counts (different from 0 week) test vs. control, RM ANOVA analysis, significant: *p < 0.05.

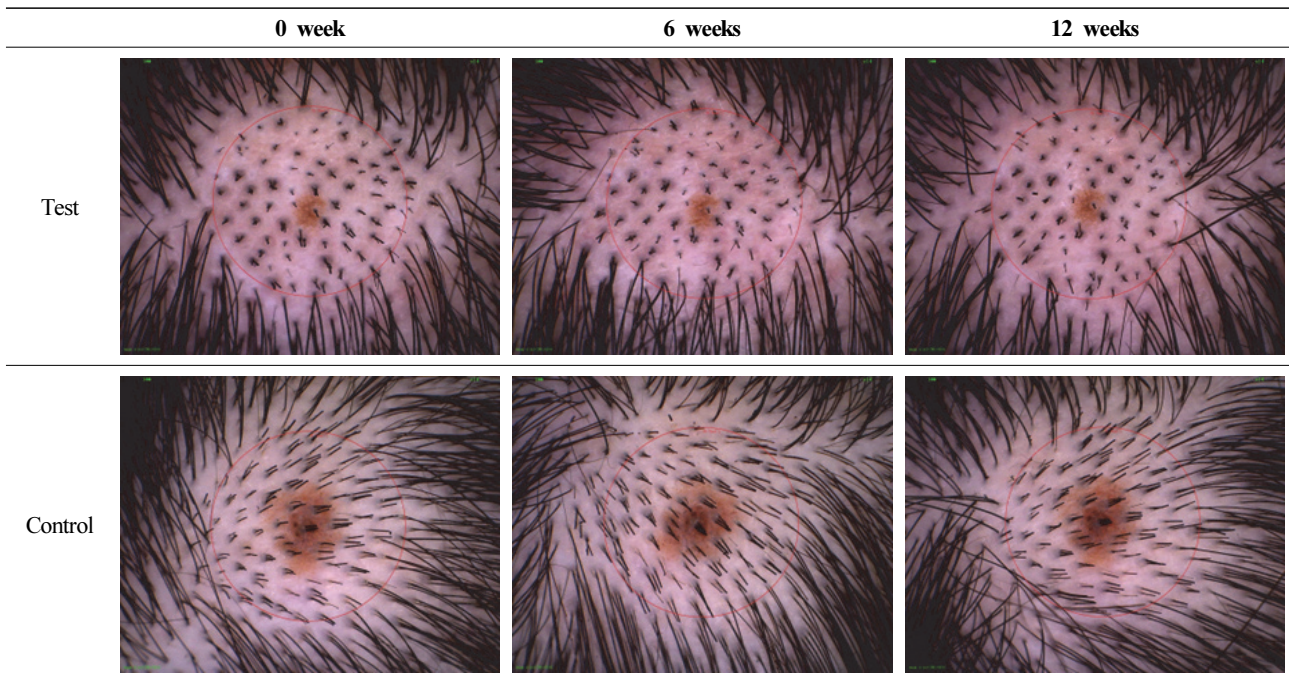


Figure 4. Photographs of phototricogram pictures for the test and control group using by 0, 6, and 12 weeks.

였다. 제품 사용 12 주 후 전체 모발 수가 사용 전 대비 통계적으로 유의하게 증가하였다($p < 0.05$, Figure 3A). 제품 사용 전과 측정 시점의 모발 개수의 차이를 대조군과 비교한 결과, 12 주의 측정 모발 개수의 차이가 통계적으로 유의하게 차이가 나는 결과를 얻었다($p < 0.05$, Figure 3B). 피험자의 탈모 부위에 일정 부분 삭모를 하고 점 문신을 통하여 제품 사용에 따른 모발의 밀도 등을 살펴보았을 때, 제품 사용에 따른 시험군의 모발의 밀도가 증가하는 경향을 보였다(Figure 4).

4. 결 론

Fervidobacterium islandicum AW-1이 녹각, 녹용과 같은 뿔과 조류의 깃털을 분해하여 생산하는 케라틴 펩타이드는 일반 펩타이드와는 달리 특이한 황(sulfur)을 함유하는 시스테인과 같은 희귀아미노산 함량이 많아 과거 가축들의 필수 아미노산의 영양원으로 사용되었다. 이러한 케라틴 펩타이드는 난용성과 난분해성으로 인해 산업기에 의한 가수분해로 이용되었으나, 특이한 황에 의한 이취로 인하여 화장품 및 식품 소재로 사용하기에 어려웠다. 그러나 이러한 케라틴을 미생물을 이용하여 무작위 가수분해와는

달리, 효소에 의한 분해를 통해 펩타이드 수준의 분자량으로 생산할 수 있었다. 이러한 방법으로 녹용 발효 케라틴 펩타이드를 화장품 소재로 모발관련 효능을 살펴보기 위하여, 모발 세포의 독성 및 증식을 평가하고, 모발관련 성장인자 발현을 살피고 이를 통하여 인체효력시험을 진행하였다.

인체 모유두 세포주를 이용하여 녹각 발효 케라틴 펩타이드(AKP)와 녹용박 발효 케라틴 펩타이드(VKP)의 농도에 따른 세포 독성이 관찰되지 않았으며, 농도 의존적으로 세포의 증식능을 관찰할 수 있었다. 인체 모유두 세포를 이용한 녹용 발효 케라틴 펩타이드는 IGF-1, PDGF, FGF-10, VEGF에서 음성대조군 대비 증가하는 경향을 보였고, 특히 녹용박 발효 케라틴 펩타이드(VKP)는 0.02% (w/v)에서 통계적으로 유의하게 음성대조군 대비 높게 나타났다.

녹용 발효 케라틴 펩타이드를 함유한 제품을 대상으로 인체 피부자극 안전성 평가를 수행하여 피부에 안전함을 확인하였다. 이를 통해 헤어토너를 제조하여 식품의약품안전처 탈모 증상 완화 인체 효력 시험 가이드라인에 따라 안드로겐성 탈모를 보이는 피험자를 대상으로 시험군과 대조군 피험자를 선발하여 제품을 사용하는 12 주 동안 탈모증상에 대한 인체 효력 시험을 수행하였다. 그 결과 녹용 발효 케라틴 펩타이드를 함유한 제품을 사용한 시험군

의 경우 제품 사용 전 대비 전체 모발 수가 통계적으로 유의한 증가를 보였으며($p < 0.05$), 대조군과 비교한 모발 개수의 차이는 12 주에 통계적으로 유의한 차이를 보이는 결과를 나타내었다 ($p < 0.05$). 식품의약품안전처 가이드라인에 따르면 24 주 동안 제품을 사용하여 시험군과 대조군의 모발개수의 차이를 보여야 기능성화장품의 효능으로 인정을 받는 결과를 보이지만, 녹용 발효 케라틴 펩타이드를 함유한 헤어 토너의 경우 제품 사용 12 주 만에 대조군과 통계적 유의차이를 보여 향후 탈모증상완화 기능성 화장품 원료의 가능성을 보여줬다.

본 연구를 통하여 녹용 발효 케라틴 펩타이드는 기능성 화장품 소재로서의 가능성을 나타내었고, 향후 건강기능식품의 모발건강 개선의 원료로 이후 시험을 진행하여, 화장품뿐만 아니라 식품으로서 그 기능성 효과를 확보하여 소재의 활용성을 더욱 높일 수 있을 것으로 기대할 수 있다.

References

1. N. J. Gang, H. S. Jin, S. E. Lee, H. J. Kim, and H. Koh, New approaches towards the discovery and evaluation of bioactive peptides from natural resources, *Crit Rev Environ Sci Technol.*, **50**(1), 72 (2019).
2. T. Uhlig, T. Kyprianou, F. G. Matinelli, C. A. Oppici, D. Heiligers, D. Hills, X. R. Calvo, and P. Verhaert, The emergence of peptides in the pharmaceutical business: From exploration to exploitation, *EuPA Open Proteom.* **4**, 58 (2014).
3. H. Korhonen and A. Pihlanto, Food-derived Bioactive Peptides-Opportunities for Designing Future Foods. *Curr Pharm Des*, **9**(16), 1297 (2003).
4. G. Tucker, B. DeSilva, J. Dressman, M. Ito, T. Kumamoto, D. Mager, H. Mahler, A. H. M. Zeem G. M. Pauletti, H. Sasaki, V. Shah, D. Tang, and M. Ward, Current Challenges and Potential Opportunities for the Pharmaceutical Sciences to Make Global Impact: An FIP Perspective. *J. Pharm. Sci.* **105**(9), 2489 (2016).
5. B. Wang, W. Yang, J. McKittrick, and M. A. Meyers, Keratin: Structure, mechanical properties, occurrence in biological organisms, and efforts at bioinspiration, *Prog Mater Sci.* **76**, 229 (2016).
6. 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**(4), 1517 (2012).
7. 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).
8. 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).
9. 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).
10. 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).
11. Y. J. Lee, I. Dganasingh, J. S. Ahn, H. S. Jin, J. M. Choi, S. H. Lee, and D. W. Lee, Biochemical and structural characterization of a keratin-degrading M32 carboxypeptidase from *Fervidobacterium islandicum* AW-1, *Biochem Biophys. Res. Commun.*, **468**, 927 (2015).
12. 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).
13. S. Kim, S. N. Kim, G. Jeong, M. J. Hong, Y. Lee, S. H. Shin, H. Park, Y. C. Jung, E. J. Kim, B. C. Park, and H. J. Kim, Efficacy of caffeine in promoting hair growth by enhancing intracellular activity of hair follicles, *Korea J Cosmetic Science*, **1**(1), 11 (2019).
14. M. H. Kwack, S. H. Shin, S. R. Kim, S. U. Im, I. S. Han, M. K. Kim, J. C. Kim, and Y. K. Sung, L-Ascorbic Acid 2-Phosphate Promotes Elongation of Hair Shafts via the Secretion of Insulin-like Growth Factor-1 from Dermal

- Papilla Cells through Phosphatidylinositol 3-Kinase. *Br J Dermatol*, **160**(6), 1157 (2009)
15. J. Kim, J. Y. Shin, Y. H. Choi, M. Jang, Y. J. Nam, S. Y. Lee, J. H. Jeon, M. H. Jin, and S. Lee, Hair Growth Promoting Effect of *Hottuyenia Cordata* Extract in Cultured Human Hair Follicle Dermal Papilla Cells. *Biol Pharma Bulletin*, **42**(10), 1665 (2019)
 16. M. Iino, R. Ehama, Y. Nakazawa, T. Iwabuchi, M. Ogo, M. Tajima, and S. Arase, Adenosine Stimulates Fibroblast Growth Factor-7 Gene Expression Via Adenosine A2b Receptor Signaling in Dermal Papilla Cells. *J Invest Dermatol*, **127**(6), 1318 (2007)
 17. W. Li, X. Y. Man, C. M. Li, J. Q. Chen, J. Zhou, S. Q. Cai, Z. F. Lu, and M. Zheng, VEGF Induces Proliferation of Human Hair Follicle Dermal Papilla Cells through VEGFR-2-Mediated Activation of ERK. *Exp Cell Res*, **318**(14), 1633 (2012)
 18. F. M. Tsai, L. K. Wang, M. L. Chen, M. C. Lee, Y. Y. Lin, and C. H. Wang, Induction of Cell Proliferation and Cell Death in Human Follicle Dermal Papilla Cells by Zinc Chloride. *Indian J Pharm Sci*, **81**(4), 781 (2019).
 19. J. H. Oh, K. H. Jeong, J. E. Kim, and H. Kang, Synthesized Ceramide Induces Growth of Dermal Papilla Cells with Potential Contribution to Hair Growth, *Annal Dermatol*, **31**(2), 164 (2019).
 20. S. Y. Ahn, L. Q. Pi, S. T. Hwang, and W. S. Lee, Effect of IGF-I on Hair Growth Is Related to the Anti-Apoptotic Effect of IGF-I and Up-Regulation of PDGF-A and PDGF-B. *Annal Dermatol*, **24**(1), 26 (2012)
 21. S. Lachgar, M. Charveron, Y. Gall, and J. L. Bonafe, Minoxidil upregulates the expression of vascular endothelial growth factor in human hair dermal papilla cells. *Br J Dermatol*, **138**, 407 (1998)