



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

김 경 희 교수지도  
박사학위 청구논문

솔잎 추출물의 모발 성장 촉진 효과에  
관한 연구

2014

성신여자대학교 대학원  
의류학과  
신 부 섭

솔잎 추출물의 모발 성장 촉진 효과에  
관한 연구

김 경 희 교수지도

이 논문을 박사학위논문으로 제출함

2013년 11월


성신여자대학교 대학원


의류학과


신 부 섭


# 인 준 서


신부섭의 박사학위 논문으로 인준함.

심사위원 김 주 력 

심사위원 이 태 풍 

심사위원 이 영 주 

심사위원 장 민 정 

심사위원 김 영 희 

성신여자대학교 대학원

## 논문 개요

본 연구는 솔잎추출물을 이용하여 모발성장 촉진효과에 대해 알아보고자 생체외(in vitro)와 생체내(in vivo)실험을 통해 생리학적인 변화와 기능학적 검사인 혈액학적 및 항산화 실험, 조직학적 모발형태 변화, 분자생물학적 발현량을 체계적으로 비교분석하였다. 실험동물은 생후 5주령 된 웅성 C57BL/6 mouse를 이용하였고, 실험군은 E1 도포군(솔잎 2%), E2 도포군(솔잎 4%) 및 대조군(saline)과 양성대조군(3% MXD)으로 하여 군별 당 5마리를 이용하여 각 시료에 따라 제모한 후 등 부위에 시료를 1일 2회, 매 회 120 $\mu$ l씩 주 6일, 4주 동안 경피 도포 후 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

첫째, 솔잎추출물의 전자공여능을 측정한 결과는 BHT와 솔잎추출물 모두 농도가 증가함에 따라 전자공여능이 증가하는 양-반응 관계를 나타냈다.

둘째, 적출한 피부 조직의 유해산소 대사 효소 활성 변동의 함량은 대조군에 비하여 양성대조군과 실험군(E1, E2)이 XO와 TBARS가 각각 통계적으로 유의하게 낮았고, SOD와 CAT는 대조군에 비하여 양성대조군과 실험군(E1, E2)이 유의하게 증가하였다. 이를 볼 때 솔잎추출물이 인체에 유해한 활성산소종의 방어기전으로서의 작용됨으로 육모 촉진과 탈모예방에 효과가 있는 것을 볼 수 있다.

셋째, 생리적 기능에 대한 효능을 확인하기 위한 체중, 식이량, 음수량 및 식이효율의 변화는 경미하게 관찰되었으나 모든 군에서 통계적 유의성은 없었으며, 독성실험의 안전성 지표로 장기의 심장, 비장, 간, 신장(좌·우) 및 흉선 무게를 측정한 결과는 심장, 비장, 간, 신장(좌·우) 및 흉선 무게 모두

대조군에 비해 양성대조군과 실험군(E1, E2)에서 통계학적 유의성은 나타나지 않았다. 본 연구의 결과로 술잎추출물은 장기기능별에 대한 직·간접적인 영향은 미미한 것으로 나타났다.

넷째, 기초대사성을 보기위해 혈액학적 검사의 백혈구 수치변화에서는 대조군에 비하여 양성대조군에서는 통계적 유의성이 없었으나, 실험군(E1, E2)은 대조군에 비해 통계학적 유의성 있게 나타났다. 실험군 E1에서는 백혈구 중 염증관련 세포인 호중구에서 유의하게 증가하였다. 단핵구, 호산구, 호염기구, 적혈구, 혈색소, 적혈구 용적, 혈소판 수치는 모든 실험군 간에서 통계적 유의성이 나타나지 않았다.

다섯째, 피부 조직을 H&E로 염색하여 광학현미경으로 관찰한 결과 100배율에서 육안으로 확인된 모낭의 수, 모낭깊이, 진피의 두께 모두 대조군에 비해 양성대조군, 실험군(E1, E2)에서 통계적으로 유의하게 증가하는 경향이 확연하게 보였다. 이를 볼 때 술잎추출물이 모발 성장 촉진효과가 있는 것을 볼 수 있었다.

여섯째, 모발성장을 유도하는 중요한 지표로 간주되는 피부조직 내 효소 활성도를 측정하기 위해 ALP의 효소 활성도 측정 결과는 대조군에 비해 모든 군에서 증가하는 경향을 나타내어 통계적 유의성을 보였다. 증식과 분열이 활발한 세포에서 많이 발현되어지는  $\gamma$ -GT가 대조군에 비해 모든 군에서 증가하는 경향을 나타내어 통계적 유의성을 보였다.

일곱째, 피부조직 내 IGF-1 mRNA의 성장인자 발현량은 모발성장과 함께 증가하는 경향을 보였으며, 대조군에 비해 모든 군에서 통계적으로 유의성 있게 증가하여 높은 활성을 보였고, 피부조직 내 VEGF mRNA의 발현량 또한 실험군 E2> 실험군 E1> 양성대조군> 대조군 순으로 높은 활성을 보였고, 저해인자인 TGF- $\beta$ 1 mRNA의 발현량은 대조군에 비하여 양성대조군, 실험군(E1, E2)에서 많이 줄어들어 유의성이 나타났다.

# 목 차

## 논문개요

I. 서론 .....	1
1. 연구의 목적과 필요성 .....	1
2. 연구문제 .....	5
II. 이론적 배경 .....	6
1. 솔잎 .....	6
2. 모발의 구조와 성장주기 .....	12
3. 탈모 .....	18
4. 용어 정리 .....	26
III. 실험재료 및 방법 .....	28
1. 실험재료 .....	28
2. 실험방법 .....	28
IV. 연구결과 .....	38
1. 생체외(In vitro) 항산화능 측정 .....	38
2. 육모효과 생체내(In vivo) 실험 .....	41
V. 고찰 .....	66
VI. 결론 및 요약 .....	73

참고문헌

ABSTRACT

## List of Tables

Table 1. The functional effects of pine tree .....	7
Table 2. Nucleotide sequence of the primers and expected size of <i>Real-time</i> RT-PCR products .....	36
Table 3. Effect of <i>Pine-needles</i> extract on skin XO, SOD, CAT and TBARS activity in mice .....	40
Table 4. Changes of water and food intake, body weight gain and food efficiency ratio .....	41
Table 5. Changes of absolute and relative organ weight in mice .....	43
Table 6. Changes of hematological parameters in mice .....	45
Table 7. Comparison of the hair growth effect in mice .....	48
Table 8. Changes of hair follicle number in the skin of mice .....	49
Table 9. Changes of hair follicle depth in the skin of mice .....	51
Table 10. Changes of dermal thickness in the skin of mice .....	53
Table 11. Changes of alkaline phosphatase activity in the skin of mice .....	56
Table 12. Changes of $\gamma$ -glutamyl transpeptidase activity in the skin of mice..... .....	58
Table 13. Changes of insulin-like growth factor-1 mRNA expression in the skin of mice .....	60
Table 14. Changes of vascular endothelial growth factor mRNA expression in the skin of mice .....	62
Table 15. Changes of transforming growth factor- $\beta$ 1 mRNA expression in the skin of mice .....	64

## List of Figures

Fig 1. Hair follicle .....	13
Fig. 2 Hair cycle .....	15
Fig 3. Electron donating ability of <i>Pine-needles</i> extracts .....	38
Fig 4. Changes of body weight in mice .....	42
Fig 5. Photographs of hair growth in mice .....	47
Fig 6. Changes of hair follicle number in the skin of mice .....	50
Fig 7. Changes of hair follicle depth in the skin of mice .....	52
Fig 8. Changes of dermal thickness in the skin of mice .....	54
Fig 9. Histological observation in the back skin of mice .....	55
Fig 10. Changes of alkaline phosphatase activity in the skin of mice .....	57
Fig 11. Changes of $\gamma$ -glutamyl transpeptidase activity in the skin of mice .....	59
Fig 12. Changes of insulin-like growth factor-1 mRNA expression in the skin of mice .....	61
Fig 13. Changes of vascular endothelial growth factor mRNA expression in the skin of mice .....	63
Fig 14. Changes of transforming growth factor- $\beta$ 1 mRNA expression in the skin of mice .....	65

# I. 서론

## 1. 연구의 목적과 필요성

21세기 정보화 사회에서는 외적 이미지가 개인의 정체성을 나타내는 상징과 차별화된 경쟁력으로 간주되면서 중요한 요소로 평가되고 있다. 오늘날 외모는 타고난 것이라는 과거의 개념과는 달리 만들어지고 성취되는 것이라는 가치관이 형성되면서 모발에 대한 관심과 탈모에 대한 연구는 더욱 발전하고 있다.

우리나라 탈모증 환자의 증가 비율을 탈모증 진료 인원으로 확인한 결과 2007년 16만 6천명에서 2011년 19만 명으로 약 17% 증가하여 연평균 증가율은 4.0%로 나타났다(건강보험심사평가원, 2012. 09. 19). 또한 2009년 기준으로 전체 진료환자 중 20~30대 진료환자의 비율이 전체의 48.4%를 차지하고(국민건강보험공단, 2011. 03. 28), 남성에 비해 상대적으로 탈모의 유전적 요인이 적은 여성도 탈모환자 비율이 48.1 %로 남성과 비슷한 비율을 보이고 있다고 하였다(건강보험심사평가원, 2012. 09. 19). 이와 같이 몇 년 전까지만 해도 탈모로 병원을 찾는 사람은 중년 남성이 대부분이었지만 요즘은 탈모 연령이 낮아지고 있으며, 남성과 여성의 비율이 같아지고 있음을 알 수 있다.

탈모는 그 자체만으로 건강상 문제는 없으나 남녀 모두에게 취업, 결혼 등 대인관계에 영향을 주며 특히 당사자에게는 외모에 대한 심리적인 위축감, 우울증, 대인관계 기피 등으로 일상생활에 장애를 주고 있기 때문에 근본적인 해결 방법을 찾는 것이 중요하다.

탈모의 원인에 대해서는 아직 명확하게 밝혀지지 않고 있다. 그러나 남성 호르몬으로 인한 내분비 이상과 스트레스 요인, 영양 결핍과 과잉, 음주 및

흡연, 약물 복용, 아토피 및 지루성 피부염, 강한 자외선, 바이러스 감염, 외상, 혈관 운동 불안정성, 유전적 소인 등이 관여될 것으로 생각되어 왔으며, 최근에는 자가 면역질환도 원인이 있는 것으로 알려져 있다(연광해, 2007). 이외에 탈모에 영향을 미치는 사회 문화적 요인으로는 남성 및 여성들의 사회활동 증가로 인한 과중한 업무, 직장에서의 스트레스와 화학약품 사용 등이 있다(허진주 등, 2005).

의학적으로 탈모는 유전적인 요인에 의해 작용하지만 후천적인 요인이 탈모를 많이 유발시킨다고 알려져 있다(Ozeki & Tabata, 2003). 탈모 중 가장 대표적인 남성형 탈모는 안드로겐성 탈모라고도 불리며, 유전적 원인으로 인하여 남성호르몬인 안드로겐(androgen)의 대사산물 중 하나인 디하이드로테스토스테론(dihydrotestosterone, DHT)의 과다 분비가 주원인으로 작용한다(이타미 사토시, 2010).

현재 탈모 치료제로 사용되는 약물로는 미녹시딜(minoxidil)과 피나스테리드(finasteride)가 잘 알려져 있으며, 이 두 약물은 미국식품의약국((Food and Drug Administration, FDA)의 승인을 받은 제품이다. 미녹시딜은 원래 'potassium channel opener'로 합성되어 고혈압 치료를 위한 혈관확장제로 개발되었으나, 1988년 남성형 탈모의 외용제로 공인되었다(최병렬, 2007).

약물치료 이외에 많이 사용되는 치료 방법으로는 모발 이식술과 같은 수술 요법과 부신피질호르몬제나 기타 다양한 약물을 국소에 주입하는 주사 요법, 국소 UV조사, 비 특이성 자극제의 국소도포요법 등이 있다(이유신, 최지호, 1985). 하지만 탈모의 고통에서 벗어나기 위한 모발이식과 여러 의학적인 치료법의 개발에도 불구하고 과학적인 증거와 지식의 부족, 인체에 나타나는 부작용으로 인해 만족할만한 의학적인 치료에는 한계가 있다(Esfandiari & Kelly, 2005). 탈모는 장기적인 치료를 필요로 하고 있기 때문에 부작용을 최소화하는 것이 관건이다. 최근에는 이러한 점을 보완하기 위해 세계적으로 많은 대학 및 기업 연구소 등에서 인체에 부작용이 적은

대체 물질을 찾기 위해 모발 성장과 탈락에 대한 세포학적, 조직학적, 생화학적이거나 또는 분자 생물학적 연구가 활발히 진행되고 있으며(Zagana et al., 2008), 모발 성장을 개선하기 위해 새로운 치료법과 물질을 찾는 데 많은 노력을 하고 있다(홍정애, 2008).

천연물질을 이용한 모발 성장 촉진제 개발은 탈모환자들에게 부작용 없이 사용될 수 있는 보편성을 필요로 하며, 효과 면에서 기존의 화학적 탈모제와 차별 없는 효능과 특수성이 함께 보완될 수 있는 연구가 선행되어야 한다. 세계 탈모 시장 중 가장 활발한 시장 개발을 하고 있는 일본의 경우 미녹시딜 성분의 ‘리업(RiUP)’이 큰 성공을 거둔 이후 여러 가지 천연물의 유효 성분을 이용한 제품 개발이 활발히 이루어지고 있다. 가오의 ‘썩세스 모발 활성화’는 고추나무 추출물을 복합 처방한 제품으로 개발되었고, 가네보의 ‘약용 자전개 Z’는 정향나무의 유게놀(Eugenol) 성분 유도체 등을 주성분으로 개발되었다. 이외에 시세이도의 ‘약용 불로림’은 회화 나무와 일본산 차(茶)인 야마차 등을 주성분으로 개발되었다(임채운, 2012).

이는 국내 시장에도 영향을 주어 천연물질을 이용한 탈모에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 천연물질 추출물이 모발 성장 및 탈모 방지에 미치는 영향에 대한 선행 연구로 송황순(2011)은 발아현미 상황버섯 균사체 추출물로 생체내(in vivo) 실험을 하여 상황버섯 균사체 추출물이 성장기의 모낭 생성을 촉진시킴으로 모발의 성장을 촉진한다는 연구 결과를 보고하였으며, 안형진(2001)은 캅사이신을 연고로 제품화하여 캅사이신과 미녹시딜의 병용도포가 모발 성장에 미치는 영향에 대해 실험하였다. 실험 결과 캅사이신 연고와 미녹시딜의 병용 도포는 캅사이신이 모발의 성장을 지속적으로 촉진하는 효과와 미녹시딜의 모낭을 계속 유지하는 효과가 병합되어 모발의 성장을 지속 시킬 수 있다고 하였다. 이외에 산삼배양근을 함유한 생약추출물이 탈모방지 및 육모 촉진에 관한 연구(안규성, 황인철, 2009), 신웅양진단가미방 추출물이 모발 성장 촉진 효과(조명숙, 2007), 오

가피 추출외용제의 발모 효과(임성혁 등, 2007), 상백피 추출물의 육모 촉진 효과(이희삼, 문재유, 2000), 사삼추출물의 발모 효과 연구(이연미, 2008) 등이 있다. 이상학(2007)과 한애리(2009)는 생발음, 즉 예엽(芮葉), 당귀(當歸), 측백엽(側柏葉), 고삼(苦蔘), 승마(升摩), 백지(白芷), 창출(蒼朮), 석류피(石榴皮)를 한약물로 제조한 물질을 C57BL/6 마우스의 피부에 도포하여 육모 촉진 효과가 있는 것으로 보고하였다. 이 중 생발음은 식약처의 승인을 받아 탈모 방지와 양모 효과가 있는 샴푸, 헤어에센스, 헤어토닉 등의 제품으로 출시되었다. 이외에도 많은 천연물질 추출물이 피부 자극에 의한 염증 반응 없이 부작용도 적고, 발모 효과가 좋아 천연물질에 대한 연구가 지속되고 있다. 제품으로 출시된 제품은 한정적이지만 최근 모발 성장에 도움을 주는 천연물질에 대한 수요는 급속히 증가하고 있으므로 새로운 모발 성장 촉진 효과를 가진 물질에 대한 연구는 기초 연구와 제품 개발에 대한 연구 자료로서 매우 필요로 하다.

본 연구는 항산화작용과 멜라닌 활성화 작용 등의 약리작용이 뛰어나 식용 및 약제로 널리 사용된 솔잎추출물이 모발 성장에 미치는 영향에 대한 과학적인 근거를 제시하고자 한다. 또한 모발 성장 촉진 효과를 알아보기 위한 목적으로 동물 실험을 진행하여 천연기능성 발모 개선에 활용될 수 있는 기초 연구와 발모화장품 이용 물질로서의 가능성을 확인해 보고자 한다.

## 2. 연구문제

본 연구는 솔잎 추출물이 모발성장 촉진에 미치는 영향에 대한 과학적인 근거를 제시하고, 천연기능성 발모 개선에 활용될 수 있는 기초 연구와 발모화장품의 이용 물질로 상업적 가능성을 살펴보고 향후 유사 연구의 기초 자료를 제공하는데 그 목적을 둔다.

### <연구문제 1>

생체 외 실험으로 솔잎 추출물에 대한 전자공여능을 측정한다.

### < 연구문제 2>

적출한 피부 조직의 XO, SOD, CAT 활성치 및 TBARS 함량의 대조군, 양성대조군, 실험군 E1, 실험군 E2 간 유의성을 비교·분석한다.

### <연구문제 3>

실험모델 대조군, 양성대조군, 실험군 E1, 실험군 E2의 제모한 등 부위 발모상태 별 모발 성장의 차이를 비교·분석한다.

### <연구문제 4>

조직학적 형태 관찰을 위해 실험된 등 부위에서 절취한 피부조직을 H&E 로 염색하고 광학현미경으로 관찰하여 대조군, 양성대조군, 실험군 E1, 실험군 E2 간 모낭수, 모낭깊이, 피부의 두께의 차이를 비교·분석한다.

### <연구문제 5>

피부 조직의 효소활성도와 분자생물학적 변화를 측정하여 대조군, 양성대조군, 실험군 E1, 실험군 E2의 유의성을 비교·분석한다.

## Ⅱ. 이론적 배경

### 1. 솔잎

#### 1) 소나무의 일반적 특성

소나무(적송, *Pinus densiflora*)는 소나무과(Pinaceae)에 속하는 상록교목 침엽수로 우리나라에서 가장 넓은 면적에 분포되어 있고 개체 수에 있어서도 가장 많으며, 우리의 건강 유지에 많은 공헌을 해온 식물이다(이창복, 1982).

소나무는 사계절 사용이 쉽고, 우리 민족의 생활과 풍토에 매우 밀접한 관계를 맺고 있는데, 그 중요성이 특정 부분으로 한정되지 않고 잎, 줄기, 뿌리, 꽃가루, 열매, 송진, 속껍질은 물론 뿌리에 자라는 기생성 균체인 북령과 송이버섯까지 쓰이지 않는 부위가 없다. 또한 그 효용가치는 허준의 「동의보감(東醫寶鑑)」에서 잘 언급되어 있으며(송효정, 1993), 우리나라의 「충주고황절요(忠州救荒切要)」에서는 “솔잎을 먹으면 생명을 연장 시킬 수 있다”고 했다(유태중, 1992).

솔잎의 약효에 대한 기록은 고문서에서 찾아볼 수 있는데 중국 최고의 약에 대한 문헌 「신농본초경집주(神農本草經集註)」에 있다. 이 문헌은 신농씨가 365종의 약초를 상, 중, 하의 3가지로 나누어 기술한 것으로 상으로 분류된 120여 가지 약초 중에 솔잎이 등장하고 있다(윤근영, 2009). 중국 명(明)나라 때의 본초학자(本草學者) 이시진(李時珍:1518~1593)의 「본초강목(本草綱目)」에서도 솔잎으로 만든 술은 중풍, 각지, 보행 불능 등에 효과가 있고 “솔잎을 생식하면 중양이 없어지고 모발이 돌아나며 오장을 편안하게 하여 오랫동안 먹으면 불로장수한다”고 하였다. 그 외에도 「상지비록

《(上地秘錄)》 속편 32권을 보면 송엽주(松葉酒)는 신경통, 류마티스 등에 효과가 있다고 했으며, 중국의 고서인 「성혜방(聖惠方)」에는 솔잎죽이 심신을 가볍게 하고 피로를 풀어준다고 되어 있다(윤근영, 2009). 또한 「신농초본경(神農草本莖)」에는 송진(松津)이 등창과 부스럼을 치료하고 풍(風)의 기운을 없애고, 오장(五臟)의 열을 제거하여 오래 복용하면 몸이 가볍고, 늙지 않고 수명을 연장한다고 하였다(김창수, 2012). 이와 같이 소나무는 활용도가 다양하여 예로부터 민간에서 널리 민간요법 및 천연약재로 많이 활용되어졌다.

소나무의 기능적 효과에 대하여 선행 연구를 바탕으로 정리하면 Table. 1과 같다.

Table 1. The functional effects of pine tree.

소나무의 각 부분	기능적 효과	
	기능	용도
송화가루	- 기운이 없을 때 - 대장염, 깊은 상처에 효과	다식, 송화밀수
송엽(松葉)	- 신경 안정 및 혈당 저하효과 - 콜레스테롤 수치 저하 효과 - 말초 신경 확장 - 감기 예방 효과	화장품, 치약, 샴푸, 향료, 고약, 송엽주, 솔잎차, 죽, 선식, 농 축액, 떡, 쿠키, 껌
뿌리(茯苓)	- 강장, 이뇨, 진정 등에 효능 - 신장병, 방광염, 요도염에 이용	술, 차, 죽, 떡
송진(松津)	- 의약품이나 화학 약품의 원료 - 살균작용, 항염증 작용	고약, 외용약, 반창고 등의 기초제
송절(松節)	- 피부염에 효과 - 타박상, 관절염에 효과	술, 차, 화장품

소나무류의 잎은 그 생김새가 바늘과 닮았다고 하여 침엽으로 표현하고 있으며, 우리나라 소나무의 성숙한 침엽 길이는 3~13cm 범위 안에 있다(박주성, 2009). 잎의 길고 짧은 변이는 토양의 조건, 기후, 나무의 나이, 병충해 등 여러 가지 원인이 있으며, 이 가운데 땅 힘이 좋으면 침엽의 길이가 길어지는 현상이 나타나므로 역으로 소나무 침엽의 길이를 측정해서 그 나무가 서 있는 곳의 땅의 힘을 추측하기도 한다.

솔잎은 자연 그대로의 신선한 잎을 그대로 사용하여 비타민 C의 부족으로 생기는 괴혈병과 어린이 영양실조, 각기, 소화불량의 치료제 또는 강장제로 사용하기도 하며, 꽃은 이질에, 송진은 고약의 원료 등에 약용으로 사용하였다(과학백과사전출판사, 1999). 솔잎의 클로로필(chlorophyll)은 피부질환 치료에 사용하거나 솔잎차를 만드는데 사용하여 신경통, 관절염, 팔 다리마비, 동맥경화증 등의 치료에 사용되었던 기록이 남아 있으며(노종희, 1993), 생체조직의 산화 환원 촉진 작용 및 지혈작용 등이 있다(정희종 등, 1996).

솔잎은 저비용으로 손쉽게 얻을 수 있다는 장점과 다양한 약리 활성을 가진 천연물로서 인정되어(한정선, 2013) 한약재, 식용 등 의약 및 식품관련 산업에서 실용화를 시도하고 있으며, 기능성 식품의 연구가 더욱 활발히 진행되고 있다(전미선, 박명자, 2010).

한정선(2013)은 솔잎 발효 추출물의 피부 노화 억제 효능에 대한 연구에서 솔잎 발효 추출물이 항산화, 미백 주름, 억제 및 항염효과가 있음을 검증하였으며, 기능성 화장품 소재로서의 가능성을 증명하였다. 또한 김창수(2012)는 솔잎 추출물이 피부 상재균 및 진피의 섬유아세포에 미치는 영향에 대한 실험 결과 솔잎추출물이 피부미용에 실용적으로 응용될 수 있고 피부에 있어 항노화 가능성이 있다고 하였다.

현재 솔잎을 실용화하여 시판 중인 제품으로는 소망화장품의 '에코퓨어 모이스춰 포레 에션셜 토너'와 '에코퓨어 모이스춰 포레 비비크림'이 있으

며, 이 제품들은 물 대신 100% 솔잎수를 넣어 이중보습효과를 부여하였고, 이외에 코리아나의 ‘취가인 천비방 수(水) 에센스’, 네슈라화장품의 ‘오그체 모공스파이 캡처 폼’ 등이 있다. 솔잎을 활용하여 가장 다양한 제품을 출시한 화장품회사는 아모레퍼시픽이다. ‘한울 울려원액’, ‘정양크림’, ‘설화수’가 있으며, ‘한울 울려원액’은 충북 괴산에서 얻은 갈색 솔잎을 18시간 동안 훈증하여 효능 좋은 성분의 증류액으로 만들었는데, 그 작용은 갈색 솔잎 성분이 자외선으로부터의 피부 손상을 방지하고 진피층의 콜라겐 분해를 억제해 주름 생성을 방지하는 효과가 있다고 하였다. ‘정양크림’은 원기를 회복시키는 송절을 주원료로 한 남성 피부용 제품이다. 그밖에 솔잎을 활용하여 나온 향균과 항염 효과가 있는 아모레퍼시픽의 ‘송염 치약’과 제일제당 ‘솔의 눈’ 등이 있다.

모발에 직접적으로 사용하는 제품 중 솔잎을 실용화하여 시판 중인 것은 아모레퍼시픽의 비듬전문 샴푸 ‘덴트롤’과 ‘아윤체 두피라인’, 백옥생의 ‘명품 진헤어크리닉샴푸’, 땡기머리의 ‘뉴골드 프리미엄’, 광덕신약의 ‘오다코디’ 등이 있다.

솔잎을 식품에 활용한 선행 연구 결과도 많이 보고되었다. 썩과 솔잎을 첨가 한 절편에 대한 실험에서 분석된 영양 성분 모두 쌀에 비해서 솔잎이 더 높은 함량을 나타내었고(김종균, 1995), 찌빵의 저장성을 향상시키고자 제조 시 솔잎발효액을 첨가한 찌빵은 표면의 세균 및 곰팡이의 성장이 억제되어 저장성과 저장 수명의 향상 효과를 얻을 수 있었다(최동만 등, 2007). 윤근영(2009)은 솔잎 분말을 첨가하여 떡의 품질과 저장성이 향상되었다고 보고하였고, 최해연(2009)은 쿠키에 솔잎 분말을 첨가하는 것은 쿠키의 기호도를 증가시켜 준다고 하였으며, 폐놀함량과 DPPH 라디칼 소거능을 높여주어 쿠키의 가치를 높일 수 있다고 보고하였다. 또한, 권순용(2012)은 적당량의 솔잎분말 첨가가 돈육 소시지의 향미를 개선시키고 기호도를 향상시키는데 효과적이라고 하였다.

## 2) 솔잎의 생리활성

솔잎의 성분에 따른 기능성 효능을 보면, 동의보감과 본초강목에서도 솔잎은 미생물 억제, 산화 억제작용, 고혈압 및 뇌졸중 예방작용 등 장수약으로 전해지고 있으며(정희종 등, 1996), 항균활성이 있는 벤조산과 계피산이 공존하여 발견되어 항균활성이 있음이 규명되었다(국주희 등, 1997a). 또한 솔잎에는 항암효과가 있는 비타민 A가 함유되어 있어 스트레스에 대한 저항력을 높여주며, 독감의 예방 치료에 도움을 주는 비타민 C도 함유되어 있다. 그 외에 단백질, 지방, 인, 철, 효소, 정유 성분, 미네랄 등이 함유되어 있어(최옥자, 1991) 암의 발병을 막아주는 항암작용과 미생물에 대한 항균활성작용 등 여러 기능성이 있는 것으로 보고되었다(홍택근 등, 2001). 솔잎에 함유되어 있는 단백질 성분은 필수 아미노산 8종을 포함하여 단백질 구성 아미노산 16종이 신체의 성장과 활력증강에 효과가 있으며, 혈액의 흐름과 호르몬 변화가 있어 노화방지와 고지혈증 및 콜레스테롤 감소에 뛰어난 효과를 보이고 있다(노중희, 1993).

솔잎 추출물의 성분 분석은 다양한 기기분석을 통하여 이루어지고 있는데 이범중(2004)은 솔잎에는 테르펜(terpene)의 정유 성분과 엽록소 성분, 무기 및 유기성분, 비타민 등이 다양하게 함유되어 있고, 이 중 테르펜은 솔잎의 약 7~12%를 차지하는데, 현재까지 소나무과의 솔잎 성분 중 약 4,000여종의 테르펜류가 있으며, 불포화탄화수소인 이소프렌(isoprene)의 분자구조를 이루고 있다고 하였다. 솔잎의 테르펜은 불포화지방산을 많이 함유하고 있어 콜레스테롤 축적을 막고 동맥경화를 방지하며, 말초혈관을 확장시켜 혈액 순환을 촉진함으로써 뇌세포에 활력을 주어 뇌기능을 향상시키고, 호르몬 분비를 촉진시켜 체내 균형에 도움을 주는 것으로 보고되었다(이효진 등, 2005). 또한 식물의 테르펜 성분은 곤충과 초식동물들에 대한 화학적인 방어 기작의 중요한 역할을 한다고 알려져 있고, 이 물질들은 곰

팡이 및 세균의 성장을 방해하는 항미생물의 기능이 있다고 하였다(정보섭, 1990). 이외에 솔잎의 초록색을 띠는 엽록소 성분은 광합성 작용으로 식물체에 영양분을 공급하는 것으로 클로로필이라는 색소가 작용하기 때문이다(김재호, 2000; 이영래, 1998).

솔잎에는 수용성 탄닌(tannin)의 함량이 높는데(정희중, 1996) 탄닌은 항세균, 항바이러스, 항산화 활동을 나타내며, 그 중에서도 효소활성의 저해작용은 탄닌의 중요한 역할로 인식되고 있다(조수민 등, 2001).

농촌진흥청(1991)에서 연구한 성분 분석 결과 솔잎에는  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene, 캄펜(camphene) 등의 정유 성분, 모세혈관의 강화작용과 항암기능이 있는 플라보놀의 페놀화합물인 퀘세틴(queracetin), 지방과 DNA의 산화위험을 막고 강한 항산화작용을 하며 암세포 형성을 억제하는 화학적 예방작용제로서 활동하는 캠퍼롤(kaempferol) 등 flavonoid류, 수지 등이 있으며 수분 58.1%, 단백질 4.5%, 지질 3.9%, 당질 19.6%, 섬유소 13.3%, 회분 0.6% 정도가 함유되어 있다고 알려져 있다.

국내 부존자원 중 솔잎의 여러 가지 약리작용에 대해서는 완전히 밝혀지지 못한 실정으로 단지 각종 약효가 발휘된다고 알려져 있을 뿐이며, 한의서와 민간요법에서는 간장 질환, 비뇨생식기 질환, 위장 질환, 신경계 질환, 순환기계 질환, 피부 질환 등에 효과가 있다고 하였다(박종갑, 1984).

솔잎에 대한 연구에서 김수민 등(1998)과 김은성, 김미경(1999)은 솔잎과 지방대사와 관련한 항산화능에 대해 연구하였으며, 김종대 (1991)은 솔잎의 약용효과에 대해 솔잎 첨가 식이가 정상 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향에 관한 실험결과, 솔잎첨가군의 유리콜레스테롤, 중성지방, 유리지방산이 유의하게 증가하였다고 보고하였고, 국주희 등(1997b)은 솔잎에서 항미생물 활성에 대해 연구하였으며, 이윤형 등(1996)은 솔잎추출물을 닭으로 실험 결과 혈청 콜레스테롤 저하효과가 있음을 보고하였다.

이효진 등(2005)과 정영진 등(2002)은 솔잎 열수 증류액의 생리활성 효과

에서 암세포 성장억제 효과에 대해 측정하였는데 그 결과 솔잎 열수 증류액이 폐암세포, 유방암세포에 비교적 높은 각각 78.7%, 62.3%의 억제효과를 나타내었고, 특히 위암세포, 자궁암세포, 간암세포의 경우에는 각각 90.8%, 93.7%, 90.0%의 상당히 높은 억제 효과가 있다고 하였다. 또한, 솔잎의 식품 첨가에 대한 연구가 다양하게 진행되었는데, 이윤형 등(1996)은 솔잎이 예전부터 구황식물로 이용되어 온 점을 감안할 때 솔잎추출물은 혈청 콜레스테롤 저하 효과 등의 임상학적 효과를 갖고 있어 기능성 식품소재로 이용될 수 있다고 보고하며, 솔잎추출물을 쿠키, 캔디 및 츄잉껌에 첨가하였을 때 기호도를 향상시키고 혈청 콜레스테롤 저하 효과를 갖는 기능성제품 개발의 유용한 소재라고 보고하였다.

## 2. 모발의 구조와 성장주기

### 1) 모발의 구조

모발의 기원은 정자와 난자의 수정이 이루어진 하나의 수정란으로부터 시작되었으며, 발생은 모낭(hair follicle)이 형성되었을 때부터로 이 모낭을 구성하는 세포는 피부의 표피에서 유래되었다(곽형심 등, 2005).

모발의 구조는 크게 모간부(hair shaft)와 모근부(hair root)로 나누어지며, 모간부는 피부 표면으로 나와 있는 부분이고, 모근부는 표피 아래 위치하고 있다. 모근부의 구조를 크게 분류하면 모구(bulb), 모유두(papilla), 모모세포(keratinocyte cell), 모기질(hair matrix)로 나눌 수 있다.

모낭의 수는 태어날 때부터 결정되어 있고, 모발의 발생과 밀접한 관련이 있어 모낭에 이상이 생기면 모발이 생성되지 않는다. 모낭은 표피(epidermal)에서 시작하여 표피층(epidermis layer)을 지나 진피(dermis)에

형태를 갖춘 양과모양의 둥근 모구(bulb)가 된다(곽형심 등, 2005). 또한 모발은 피부의 두께와 위치에 따라서 깊이가 다른 모양을 가지고 있으며, 모낭의 각각에 피지선(sebaceous gland)이 달려 있다. 모구는 모근의 아래 부분에 형성되어 있으며, 제일 아래 부분에는 모유두를 덮어 맞물리도록 주위를 둘러싸고 있다. 모유두에서 아미노산을 받아 케라틴을 형성하여 모발을 만들어내고, 모유두 내에는 아미노산의 합성을 통한 케라틴 단백질 형성을 도와줌으로 모발의 발생과 성장에 영향을 미치는 많은 혈관과 신경이 분포해 있다. 이와 같이 모유두를 통해 영양분이 모구에 도달함으로써, 모유두가 건강하고 영양 상태가 좋은 만큼 지속적으로 새로운 털이 자랄 수 있게 하는 모모세포를 생산한다(김문주 등, 2003). 모유두는 모기질(hair matrix)이 감싸고 있는데, 모기질은 털을 만드는 세포로 피부세포인 케라틴형성세포(keratinocyte)와 같은 것으로 모기질 사이에는 멜라닌형성세포(melanocyte)가 있다(Fig 1).

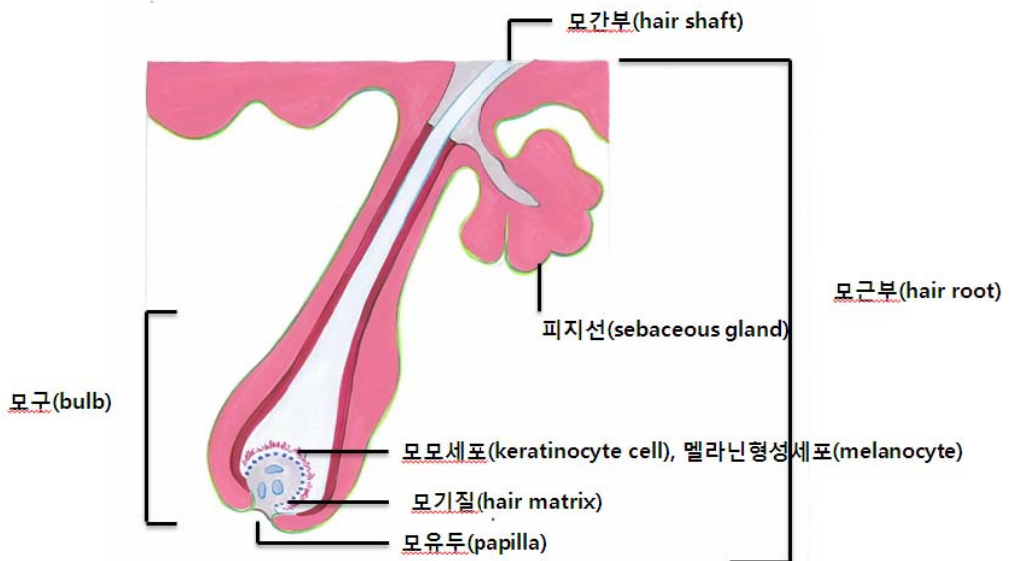


Fig 1. Hair follicle

모간부는 3개의 층으로 구성되어 있는데 가장 바깥 각질층인 모표피(cuticle)는 두피로부터 모발의 끝 방향으로 투명한 것이 비늘모양처럼 겹쳐져 5~15층으로 이루어져 있다. 모표피는 친유성(親油性)으로 외부의 자극으로부터 모발 내부를 보호해주고 보습과 윤기 등에 의해 모발을 건강 상태를 보여주고 있다. 모피질(cortex)은 모발의 색을 결정하는 멜라닌을 함유하고 있으며 모발 면적의 85~90%를 차지하고, 친수성(親水性)으로 피질세포와 세포 간 결합물질로 구성되어 있다. 모수질(medulla)은 모간의 중심부에 있으며 원형세포로 구성되어 있다(임은진 등, 2011). 모발의 성분은 케라틴이 80~90%, 멜라닌 색소 3% 이하, 지질 1~8%, 미량원소(trace element) 0.6~1.0%, 수분 10~15% 등으로 구성되어 있다(임경근, 2005).

## 2) 모발의 성장주기

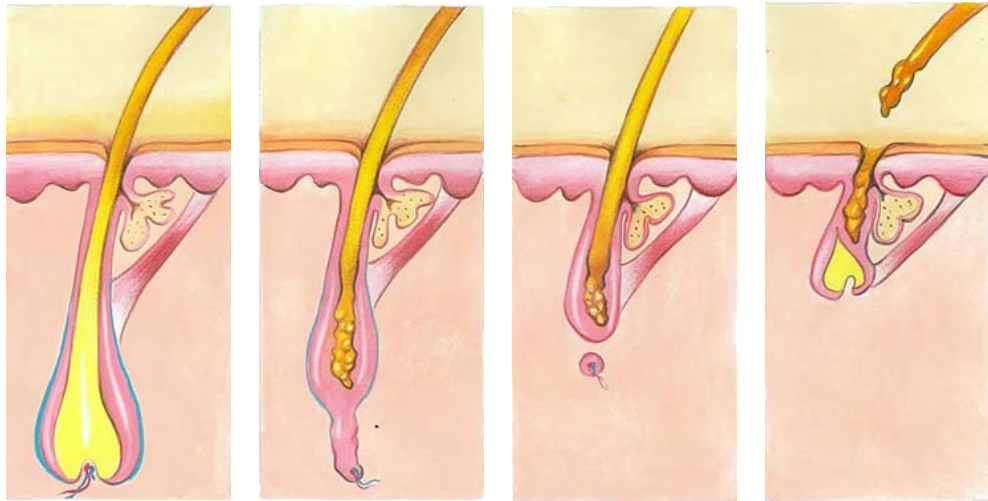
사람의 모발은 성장기(anagen), 퇴화기(catagen), 휴지기(telogen)의 성장주기를 가지고 성장과 탈락을 반복하고 있다(Stenn et al., 1996).

모발이 가장 활발하게 성장하는 성장기(anagen)의 기간은 3~6년이고, 모발의 퇴화가 시작되는 퇴화기(catagen)는 4~6주이며, 모발의 성장이 멈추거나 휴지기에 접어드는 휴지기(telogen)는 2~4개월로 이 주기가 지속, 반복되는 특징을 가지고 있다. 전체 두피 모발에서 성장기는 약 85~90%, 퇴화기는 1%, 휴지기는 10%를 차지하고, 모발의 일반적인 성장 속도는 1일 0.3~0.5mm이며, 모발의 성장은 각질형성세포(matrix keratinocytes)의 증식과 모낭성 분화에 좌우되고 있다(곽형심 등, 2005). (Fig 2)

성장기는 모낭 각질형성세포의 왕성한 증식과 모발 성장이 일어나고, 각질형성세포의 세포고사(apoptosis)가 발생하는 퇴화기를 거쳐 휴지기로 진행된다. 이런 주기적인 성장과 퇴행의 반복은 표피의 두께, 세포외 기질 물질(extracellular matrix)의 조성, 표피 구성 구조의 변형 등을 동반하고 있

다(Paus et al., 1997).

인간의 총 모낭 수는 500백만 개로 추정되며, 이 중 80,000~150,000개는 두피 부분이 차지하고(Whiting, 2004), 끊임없이 재생하는 모낭의 특별한 능력은 다기능성 각질형성세포의 줄기세포에 의해 유지되는데, 이 줄기세포는 새로운 모간 형성을 위해 분화 자손(differentiated progeny)을 생성하고 있다(Nguyen et al., 2004). 이처럼 모낭의 주기는 종간(種間)에 따라 서로 다르고, 동종(同種)에서는 부위(部位)간, 같은 부위에서는 모낭의 형태에 따라 다르게 나타나고 있다(Messenger, 1993). 성숙한 모낭은 모간을 둘러싸고 있고, 내모근초(inner root sheath, IRS)와 외모근초(outer root sheath, ORS)로 구성되어있는 상피세포(keratinocyte)로 구성되어있다.



**성장기(Anagen)**

기간:3~6년

전체 모발의

약 85~90%

**퇴화기(Catagen)**

기간:4~6주

전체 모발의

약 1%

**휴지기(Telogen)**

기간:2~4개월

전체 모발의

약 10%

**발생기  
(Return to  
Anagen)**

**Fig 2. Hair cycle**

모발이 성장되는 초기에는 팽출 부위에 위치한 줄기세포들이 아래로 변화 이동되어 분열하도록 유도하는 전이증폭(transit amplifying, TA) 세포들을 생성시키고, 모낭 하부를 간엽세포(mesenchymal cell)로 발육시키며, 더 성숙 되어 모기질세포들로 분화하면서 새로운 모낭을 만들고 있다(Wilson et al., 1994). 이러한 피부조직 모낭의 재생에 대한 기전은 아직 명백하게 밝혀지지 않고 있다.

모발은 간엽세포인 모유두 세포와 주변의 상피세포가 다양한 신호를 주고받는 복잡한 과정을 거쳐 성장하고 있다. 이러한 기능은 모낭 주변의 성장인자와 사이토카인(cytokine)에 의해 조절된다고 알려져 있는데 모낭에는 형질전환성장인자- $\alpha$ (transform growth factors - $\alpha$ , TGF- $\alpha$ ), TGF- $\beta$ , 산성 섬유아세포성장인자(acidic Fibroblast Growth Factor, aFRF), 표피성장인자 수용체(Epidermal Growth Factor Receptor, EGER), 섬유아세포수용체-2(Fibroblast Growth Factor Receptor-2, FGFR2), 인터류킨6(interleukin 6, IL-6)등이 존재하고 있으며, 모유두에는 TGF- $\beta$ , KGF, 간세포증식인자(hepatocyte growth factor, HGF), 혈관내피증식인자(vascularendothelial growth factor, VEGF), 섬유아세포수용체-1(FGFR1)등이 존재하고, 피부조직에 IL-6, 종양괴사인자- $\alpha$ (tumor necrosis factor, TNF- $\alpha$ ), IL- $\beta$  등이 존재하여(Hibino & Toshio, 2004), 모낭 형성을 촉진할 수 있는 능력을 가지며 있다. 이와 같이 성장인자와 사이토카인(cytokine)은 모낭의 발생과 모발 주기, 모발 형성을 위한 모낭주기에서도 중요한 역할을 하며 발모와 탈모에 영향을 주는 중요한 인자 역할을 하고 있다(나현욱, 2005). 또한 표피성장인자(Epidermal Growth Factor, EGF)는 모세혈관에서 혈청단백질의 투과를 증가시키고, 새로운 혈관 생성을 도와 모낭에 산소와 영양분의 공급을 증가시켜 모발의 성장을 촉진시키는 작용을 하고 있다(Srividya et al., 2010). 그러나 형질전환성장인자(TGF- $\beta$ 1, 2)는 모발의 성장을 방해하여 탈모를 일으키고, 남성호르몬(androgen)의 대사산물인 DHT는 모발의 성장기

를 짧게 함으로써 정상보다 빨리 퇴화기로 접어들게 하여 탈모를 유발하고 있다. 이와 같이 TGF- $\beta$ 1의 양이 증가하면 모낭 재생이 불완전하여 재생된 모낭의 크기가 축소되며 가늘고 짧은 모발이 생성된다(Inui et al., 2002).

세포 사이의 신호 전달을 매개하는 단백질 인자의 총칭인 사이토카인(cytokin)은 모낭(hair follicles)에 영양분과 산소를 공급하기 위한 혈관 생성에 도움을 주고 있으며, 모유두 세포에서 생성되어 모발의 성장을 촉진시키고, 세포소멸의 억제를 통해 새로 생성된 혈관의 생존을 유지시키며, 모세 혈관에서 혈청단백질의 투과를 증가시키고 있다. 이외에 사이토카인(cytokin) 중 내피세포증식인자(EGF)는 세포의 분열과 이동을 촉진시키는 작용을 하고, 섬유아세포의 분열을 촉진하고 세포의 신호 전달체계를 활성화하여 유전자 발현을 조절하며 모발의 성장을 촉진시킨다(연광해, 2007).

또한 섬유아세포성장인자(FGF)는 모발의 탈색을 억제시키고 피부재생 촉진 작용과 노후 조직의 회복 및 상처 치료를 겸하고 있다. 그리고 세포 성장을 촉진하는 인슐린유사성장인자-1(insulin-like growth factor - 1, IGF-1)등과 같은 성장인자들은 모발의 성장을 촉진하고 모발세포의 세포사를 방지하여 육모작용을 하는 것으로 알려져 있다(Ihara & Matsuzaki 2007). 이와 같이 다양한 사이토카인(cytokin)과 성장인자는 모발을 장기간 유지시켜 주는 성장기에 피부조직 혈관 생성에 관여하여 탈모를 방지시켜 주는 역할을 하고 있다. 모발의 형태학적 변화와 발생 단계에 대한 모발 성장 조절 관여와(Danilenko et al., 1996), 세포변화에 대한 인슐린 유사성장인자인 IGF-1(Insulin-like growth factor-1)은 주위 상피세포의 영향력 있는 결정적 성분 매개체로서 안드로겐 활동에 의해 기초 유두 세포에서 발현되어지고 모낭 상피세포의 성장을 자극하는 것으로 보고되었으며, 혈관 내피성장인자(VEGF)는 모낭 성장에 대한 자극 효과를 가지고 있는 것으로 알려져 있다.

### 3. 탈모

#### 1) 탈모의 원인

‘의학의 아버지’라 불리는 히포크라테스는 비둘기 배설물을 이용해 탈모로 고민하는 환자를 치료했다는 기록이 있으며, 위대한 철학자 아리스토텔레스 역시 탈모 대처법으로 직접 염소 배설물을 머리에 발랐다는 이야기가 전해지고 있다. 이 같은 이야기들로 미뤄볼 때 이미 고대부터 ‘탈모는 반갑지 않은 손님’으로 받아들여졌다(이타미 사토시, 2010).

탈모는 사전적 의미로 털이 빠지는 것이다. 의학에서는 모발이 빠지는 증상을 말하며 정상적으로 모발이 존재해야 할 부위에 모발이 없는 상태로 비정상적으로 일시적 또는 영구적으로 모발이 많이 빠지는 질병을 탈모증이라 정의한다(조승연, 2010).

탈모증이 질환인가 혹은 정상적인 노화의 과정인가에 대해서는 학자에 따라 논란이 많으나 질환으로 생각하는 쪽이 우세하다.

최근 국민건강보험공단의 통계자료에 의하면 우리나라 탈모 인구가 천만 명에 육박한다고 보고되었으며(의협신문, 2011. 10. 25), 전체 진료환자 중 20~30대 진료환자의 비율이 전체의 48.4%를 차지하고(국민건강보험공단, 2011. 03. 28), 남성에 비해 상대적으로 탈모의 유전적 요인이 적은 여성도 탈모환자 비율이 48.1 %로 남성과 비슷한 비율을 보이고 있다고 하였다(건강보험심사평가원, 2012. 09. 19).

탈모는 명백한 탈모증세 및 병변이 있는 경우도 있지만 보통은 확실한 병변도 없고 객관적으로 탈모된 모발 수를 세어보거나 모발의 모양을 관찰하지 않고, 증세를 호소하는 경우가 많다. 정상적인 탈모는 하루에 80개 내외로 빠지지만 이는 의식하지 못하는 순간에도 빠지는 경우를 말하고, 본인이 발견한 모발수가 50개 이상이면 일단 탈모를 의심할 필요가 있다. 그러

나 이것은 개인의 모발의 수에 따라 다름으로 3일 정도는 세어 평균을 내어야한다(민복기, 2006).

탈모의 원인에 대해서는 아직 명확하게 밝혀지지 않고 있으나, 의학적으로 탈모는 유전적인 요인에 의해 작용하지만 후천적인 요인도 탈모를 많이 유발시킨다고 알려져 있다(Ozeki & Tabata, 2003). 그러나 남성의 경우는 탈모가 유전이 강한 반면 여성은 부모 한쪽이 전해져도 증상이 별로 나타나지 않고 있다. 탈모의 원인을 분류해 보면 남성호르몬 중심으로 인한 내분비 이상, 영양 결핍과 과잉, 음주 및 흡연, 약물 복용, 아토피 및 지루성 피부염, 강한 자외선, 바이러스 감염, 외상, 혈관 운동 불안정성, 유전적 소인 등이 관여될 것으로 생각되어 왔으며 최근에는 자가 면역질환도 원인으로 작용하는 것으로 알려져 있다(연광해, 2007).

또한 탈모에 영향을 미칠 수 있는 사회 문화적 요인으로 남성 및 여성들의 사회활동의 증가로 인한 과중한 업무, 직장에서의 스트레스, 화학약품 등이 있다(허진주 등, 2005).

탈모의 원인 중 하나로 연령 증가에 따라 생리적으로 발생하는 모모세포의 노화를 들 수 있다. 모낭의 위축작용으로 연모가 생성되는 연모화 현상이 나타나는데 60세 이후에 그 변화 속도가 매우 빠르다(임은진 등, 2011). 다음은 혈액순환 장애를 원인으로 들 수 있다. 모발은 모유두 세포 주변에 분포하는 모세혈관을 통해 영양을 공급받고 있는데, 이 모유두 주변에 분포하는 모세혈관에 장애가 생기면 모발에 영양을 공급하는데 어려움을 갖게 된다(약국신문·장업신문 편집국, 2011). 만병의 근원인 스트레스 역시 탈모의 주요한 원인으로 스트레스 자체로는 탈모 현상이 유발된다고 볼 수는 없으나, 스트레스가 강해지면 자율신경이 분주하게 되어 신경적 부담이 자율신경 부조를 일으키게 되고, 이는 혈액 순환에 영향을 미쳐 두부의 혈액 순환장애와 연결되는데, 혈행 방해가 일어나면 영양이 모근에 도달하지 않아 탈모의 진행 속도를 촉진시키는 작용을 하는 유의적인 관계가 있다(곽

형심 등, 2002).

## 2) 탈모의 종류

탈모의 분류를 모발의 성장주기에 따라 구분하면 휴지기성 탈모와 성장기성 탈모로 나눌 수 있다. 휴지기성 탈모는 모발의 성장주기 중 성장기가 짧아지고 휴지기가 정상적인 상태에 비하여 길어진 탓에 탈모 증상이 일어난 것이므로 휴지기 탈모증이라고 불린다. 종류는 노화에 의한 탈모, 분만 후 탈모, 피임약 복용 후 탈모, 내분비성 탈모, 지루성 탈모, 다이어트에 의한 탈모, 약물복용에 의한 탈모 등 다양하나 대표적인 탈모는 남성형 탈모이다. 성장기성 탈모는 병적으로 일어나는 이상 탈모로 종류는 압박성 탈모, 약제성 탈모, 반흔성 탈모, 두부백선에 의한 탈모, 매독성 탈모가 있고 원형 탈모가 대표적이다(곽형심 등, 2005).

기원전 400년경에 히포크라테스는 환관은 대머리가 되지 않는다는 사실을 관찰하였으며, 그 후 아리스토텔레스도 환관은 대머리가 되지 않을 뿐더러 가슴 털도 자라지 않는다는 사실을 밝혀냈다(이타미 사토시, 2010). 즉 남성형 탈모는 유전적 소인이 있는 사람이 연령이 증가함에 따라 두피에 있는 테스토스테론이 2형 5- $\alpha$ 환원효소(5 $\alpha$ -reductase)에 의해 DHT로 전환되어 모낭 세포의 단백질 합성이 지연되고, 이로 인해 성장기 모낭이 더 빨리 휴지기로 들어가 연모와 같이 육안으로 볼 때 대머리가 되는 것이다(Ebling, 1986). 남성형 탈모가 남성호르몬 및 유전과 관련 있다는 사실은 1942년 예일대학의 해부학자인 해밀턴이 최초로 밝혀냈다.

해밀턴은 사춘기 전후에 거세된 남자에게 남성호르몬인 테스토스테론을 투여해 탈모 유형을 관찰했는데, 그 결과 사춘기 이전에 거세된 남성은 탈모 유전자가 있어도 대머리가 되지 않았지만, 다시 이들에게 테스토스테론을 부여하자 탈모가 시작되었다. 또, 거세된 시점에서 이미 탈모가 시작된

사람은 거세된 것으로 탈모가 멈추지만, 테스토스테론을 투여하면 다시 탈모 증상이 생긴다는 것을 알게 되었다(이타미 사토시, 2010).

여성의 탈모 원인 가운데 가장 많은 부분을 차지하는 것은 남성형 탈모로 남성과 마찬가지로 호르몬 작용으로 혹은 나이가 들면서 모발이 빠진다(임은진 등, 2011). 남성형 탈모가 나타나는 남성의 모유두 세포에는 2형 5 $\alpha$ -환원효소가 많은데, 여성 정수리의 모낭에는 2형 5 $\alpha$ -환원효소가 거의 작용하지 않는 것으로 보이고 있다. 여성에게 남성형 탈모가 생기는 이유는 폐경을 맞는 갱년기에 여성호르몬의 분비가 감소하고 상대적으로 남성호르몬이 과잉 분비되기 때문인 것으로 여겨진다(민복기, 2006).

한국인 남성형 탈모 환자의 가족력 연구를 살펴보면 한은실 등(1995)은 30개월간 내원한 남성형 탈모 환자 291명 중 남자의 41.3%, 여자의 41.2%가 가족력이 있는 것으로 보고하였고, 임현상 등(1994)은 1994년 1월부터 1994년 12월까지 만 1년간 중앙대학교 의과대학 부속 용산병원 피부과에 내원한 323명의 남성형 탈모 환자를 대상으로 임상적 고찰을 시행한 결과 전체 탈모 환자에 대한 남성형 탈모 환자의 비는 63.6%이었으며, 점차 증가하는 경향을 보였다고 하였다. 성별 분포는 남자 248명, 여자 75명으로 남자가 3.3배 많았고 연령별로는 20대가 남자 159명(64.1%), 여자 37명(49.0%)로 가장 많았으며, 30세 이전의 조기 남성형 탈모는 남자가 174명(70.1%), 여자가 42명(56.0%)이었다. 남자는 129명(52.2%), 여자는 40명(53.3%)에서 가족력을 보였으며, 직계 가족 중의 남자에게서 남성형 탈모가 있는 경우가 매우 많다고 하였다. 또한, 유재학(2002)의 해밀턴의 유전성 남성형 탈모의 유병율에 관한 연구 결과를 보면 사춘기 이전의 10대에서는 관찰되지 않고, 20대 이후에서부터 유병율이 세대별로 차츰 10%씩 증가한다고 보고하였다. 또한, 이 연구에 의하면 한국인은 60대에서 47.1%의 유병율을 보인다는 것을 알 수 있다. 이상의 결과를 종합하면 남성형 탈모 환자에게 가족력이 많은 영향을 주고 있는 것을 알 수 있었다.

이외에 난포자극호르몬, 황체자극호르몬 같은 성선자극호르몬도 분비가 저하하면 모발에 윤기가 사라지고 가늘어지며 휴지기에 들어가는 머리카락이 늘어나면서 남성형 탈모처럼 국소적이 아닌 몸 전체의 털이 감소하여 숄이 적어지는 ‘미만성 탈모’를 보이고 있다. 갑상선호르몬이 과다 분비되면 갑상선기능 항진증을 일으키는데, 이 병도 부분적이 아니라 전체적으로 털이 빠지는 미만형 탈모를 동반한다(이타미 사토시, 2010).

미국의 ‘원형탈모환자모임(National Alopecia Areata Foundation, NAAF)’이 발행한 팸플릿 표지에는 ‘원형 탈모는 목숨이 달린 질병은 아니지만 인생이 바뀌어버리는 병이다.’라고 적혀 있다(이타미 사토시, 2010). 이와 같이 원형탈모는 목숨과 관계가 있지는 않지만 당사자에게는 심각한 정신적 고통을 주고 있다. 우리나라에서는 원형 탈모가 전 인구의 0.16~0.2%에서 발생하며, 약 1.7%는 일생 중 한번은 원형 탈모를 경험하며(국민건강보험, 2011. 03. 28), 원형 탈모가 모든 탈모와 관련된 질병 중 75%를 차지하며 가장 빈도가 높게 나타나고 있다(약업신문, 2012. 09. 19). 원형 탈모는 모발이 원형으로 빠지는 경우가 많다고 해서 이 같은 이름이 붙었는데 그렇다고 꼭 둥글게 빠지는 것은 아니고, 탈모 부위도 한 곳에서 여러 곳 까지 다양하게 나타나는데, 특징으로 모발이 한꺼번에 빠지는 것을 볼 수 있다.

자기면역질환은 어떠한 원인으로 자기세포를 외부의 침입자로 생각해 공격하고 파괴하는 경우이다. 그러나 원형 탈모는 모발의 세포만을 한정적으로 공격하기 때문에 모발이 빠지는 것으로 다른 장기에는 영향이 없어 의학 용어에서 말하는 ‘장기 특이적 자기면역 질환’ 이라고 한다(방찬일, 2013). 이타미 사토시(2010) 연구에 의하면 1987년부터 2001년까지 일본의 국립소아병원을 찾은 원형 탈모 어린이 가운데 56%가 아토피성 피부염을 앓고 있다는 보고가 있다. 이처럼 아토피성 피부염 환자가 원형 탈모를 일으키기 쉽다는 것도 이전부터 알려진 사실이고 특히 젊은 환자에게서 아토피성 피부염과 원형 탈모가 함께 생기는 것을 볼 수 있다.

### 3) 탈모치료제

현재 탈모치료제로 사용되는 약물로는 미녹시딜(Minoxidil)과 피나스테리드(finasteride)가 잘 알려져 있으며 미국식품의약국(FDA)의 승인을 받은 제품이다. 미녹시딜(Minoxidil)은 제품명이 아닌 성분명이며 말초혈관 확장제로서 고혈압의 치료제로 사용되어 왔으나, 고혈압 환자에게 사용하던 중 이마나 손등에 털이 나는 것을 계기로 탈모치료제로 개발된 약제이다. 미녹시딜은 국소 도포하는 외용액으로 남녀 모두에서 사용이 가능한 탈모 치료제로 직접 모낭에 영향을 주는 것이 아니라 모낭이 건강하게 자랄 수 있는 환경을 조성시켜주는 것이다. 즉, 혈관 확장을 통한 영양공급 증가 및 K<sup>+</sup> channel opening 효과로 칼슘(calcium)농도를 낮추는 역할 등으로 모발 성장을 유도하고 있다(Libecco & Bergfeld, 2004). 이는 새롭게 모발이 나도록 하는 것이 아니라 기존에 가늘어진 모발이 굵어지도록 하거나 빠지는 현상을 막아주는 역할을 하는 것이다.

1986년 3월 대한피부과학회와 현대약품의 공동연구사업의 일환으로 임상 실험을 실시하여 미녹시딜 국소도포제가 남성형 탈모증과 원형탈모증에 현저한 치료 효과가 있다는 연구 결과를 발표하고 1988년 현대약품은 마이녹실 3%(미녹시딜 3%)를 국내에 처음 출시하였다(약국신문·장업신문 편집국, 2011). 미녹시딜은 여성 환자에게 있어서는 유일한 약물 치료제로서, 함량에 따라 미녹시딜 2%, 3%, 5% 등이 제품으로 나와 있으며 농도가 높을수록 효과가 증대 될 수 있으나 5%는 남성에게만 사용이 가능하다.

국내에는 미녹시딜제제로 현대약품 마이녹실액 2%·3%·5%·마이녹실겔 5%·마이녹실 레이디액, 한미약품 목시딜액 3%·5%, 동성약품 동성미녹시딜액 2%·3%·5%, CJ제일제당 스칼프메드 2%·3%·5%, 동아제약 카필러스액 2%·5% 등이 대표적이다. 또한 고려제약 케어모액 5%, 나모팜 나녹시딜액 2%·3%·5%, 동광제약 백일후에액 2%·3%·5%, 넥스팜 코

리아 닥터방스카파시딜액 5%, 삼일제약 리드녹실액 5%, 중의신약 마이딜액 2%·3%·5% 등이 유통 사용되고 있다(약국신문·장업신문편집국, 2011).

미녹시딜의 부작용은 두피의 자극 증상과 건조함, 인설 형성, 가려움증 등이 나타나고 있다.

이외에 프로페시아는 현재까지 나온 유일한 경구용 탈모약으로 그 화학명은 피나스테리드(Finasteride)이며, 과거에는 프로스카라는 상품명으로 노년층의 전립선 비대증을 치료하는데 쓰였으나 임상 실험을 통해 남성의 탈모 치료에도 효과적이고 안전한 방법임이 입증되어 사용되고 있다. 1998년 미국에서 탈모치료제로 시판된 이후 약 15년 동안 전 세계 50개 이상의 국가에서 판매되고 있는 이 약의 작용은 2형 5- $\alpha$ 환원효소를 선택적으로 차단시키는 작용을 하여 남성형 탈모에 새로운 물질로 사용되고 있다(약국신문·장업신문 편집국, 2011). 즉, 육모나 발모보다는 탈모 방지에 효과가 있다. 피나스테리드는 여성의 탈모 치료에는 사용되지 않으며, 특히 피나스테리드 복용 시 남자 태아의 외부 생식기 이상을 초래할 수 있기 때문에 임신 중의 여성이나 임신 가능성이 있는 여성에게 피나스테리드를 처방하는 것은 금지되어 있다(이타미 사토시, 2010).

피나스테리드의 효과가 가장 높은 사람들은 탈모가 시작되었거나 약간 진행이 된 사람들로 주로 두정부에서 탈모가 있는 경우이며, 해외의 임상실험 자료에는 50세가 넘는 환자에게서도 피나스테리드 효과가 입증되고 있다. 그러나 40세 이상~50세 이하, 50세 이상~60세 이하, 양쪽의 임상실험 자료를 비교하면 효과 면에서 약간의 차이를 보여주고 있음으로 가능한 한 빠른 시기에 복용하는 것이 좋다고 할 수 있다. 미국의 임상실험에서는 남성형 탈모 환자에게 피나스테리드를 2년간 1mg 정제를 투여하여 약 80% 이상의 모발 성장이 관찰되었다고 하였다(Kaufman et al., 1998).

이상의 결과로부터 피나스테리드의 효과는 인종에 관계없이 나타난다는

것을 알 수 있었으며, 확실한 효과가 나타나는 시기는 투약 후 6개월에서 1년이라는 부분도 공통점이다(이타미 사토시, 2010). 국내에서는 2000년 5월부터 시판되었는데 국내 피나스테리드 효능에 관한 임상 연구결과 1mg 피나스테리드정제는 효과가 없었고, 전립선 발육부전 치료제로 복용하고 있는 5mg의 피나스테리드를 사용하고 있으며, 대부분의 환자들이 치료 초기로부터 4개월 후에 약물의 주관적인 효과를 느낄 수 있었다(현지원, 2004). 피나스테리드의 부작용으로는 성적기능 장애, 성적 욕구 감소, 발기부전, 정액량 감소 등을 들 수 있으며 이런 부작용은 사용을 중지하면 수 주 내에 대부분 회복되는 것으로 나타났다.

국내에서는 한국 MSD프로페시아정을 비롯해 한미약품 피나테드정, 중외제약 모나드정, 국제약품 알로페시드정, 동국제약 알로펙정, 제일약품 모나정, 태평양제약 피나필로정, 한국유나이트제약 유나시아정, 유한양행 페로시아정, 한올바이오파마 헤어그로정, 신풍제약 바로피나정, 명문제약 다모케어정, 대웅제약 베아리모정 등 다수의 제품이 발매되고 있다(약국신문·장업신문 편집국, 2011).

약물 치료이외에 많이 사용되는 치료방법으로는 모발이식술과 같은 수술요법과 부신피질호르몬제나 기타 다양한 약물을 국소에 주입하는 주사요법, 국소 UV조사, 비 특이성 자극제의 국소도포요법 등이 있다(이유신, 최지호, 1985). 특히 모발이식술이 남성형 탈모증의 치료에 우수한 효과를 보여 국내에서도 많이 시술되고 있으나 젊은 환자의 장기간 추적 관찰에서 이식모 이외의 두정부나 전두부의 모발은 가늘어지거나 빠지기 때문에 부자연스러운 모발 형태가 나타나는 단점이 있어 주로 35세 이상의 환자에게 권유되고 있다(민복기 등, 1997).

#### 4. 용어 정리

1) 전자공여능 : Electron Donating Abilities

추출물질의 효소활성도에 따른 항산화 반응에 미치는 소거능력을 나타내는 기능을 흡광도로 측정

2) ALP : 알칼리성 인산가수분해효소(Alkaline phosphatase)

유기인산에스테르에서 무기인산을 방출하는 포스파타제이고 가장 적당한 pH가 알칼리성인 것을 말한다. 알칼리포스파타제는 뼈에 가장 많은데 혈장 중에도 발견됨

3) ASWE : 솔잎추출물(*Pine-needles* water extract)

4) BHT : 디부틸히드록시톨루엔(dibutyl hydroxy toluene)

무색의 결정, 또는 백색의 결정성 분말로 산화방지제

5) C : 통제(Control)

6) CAT : 카탈라아제(Catalase)

과산화수소가 분해되어 물과 산소가 만들어지는 반응을 촉매하는 효소이며 우리몸속의 간, 적혈구, 신장에 있음

7) DEPC : 디에틸피로카보네트(diethylpyrocarbonate)

8) DHT : 디하이드로테스토스테론(dihydrotestosterone)

C<sub>19</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>. 분자량 290.45. 녹는점 181℃. 테스토스테론에 2형 5 α-환원효소가 작용하여 생합성 되는 호르몬

9) E1 : 실험군 1(Experimental 1)

10) E2 : 실험군 2(Experimental 2)

11) EDTA ; 에틸렌디아민사아세트산(ethylenediaminetetraacetic acid)

12) GAPDH: 글리세르알데히드-3-인산디히드로게나아제

(Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase)

13) H&E : 헤마톡실린-에오진염색(Hematoxylin and eosin)

hematoxylin은 세포의 핵을 염색, eosin은 세포의 세포질을 염색

14) IGF-1 : 인슐린유사성장인자(Insulin-like growth factor-1)

인슐린과 구조가 비슷한 분자량 7,500의 폴리펩티드로 이루어진 성장인자. 혈청 내에서 인슐린과 유사한 작용을 하지만 인슐린 항체로 억제되지 않는 물질로, 2가지 물질의 구조가 결정되어 IGF- I , IGF- II 로 명명

15) PC : 양성조절(Positive control)

16) SOD : 과산화물제거효소(Superoxide dismutase)

초과산화이온을 산소와 과산화수소로 바꿔 주는 불균등화 반응을 촉매하는 효소이다. 산소에 노출되는 거의 모든 세포에서 항산화방어기작을 하는 것으로 알려져 있음

17) TGF- $\beta$ 1 : 형질전환성장인자(Transforming growth factor- $\beta$ 1)

18) TBARS : 티오바르비투릭산반응물질

(Thiobarbituric acid reactive substance)

19) VEGF : 혈관내피성장인자(Vascular endothelial growth factor)

20)  $\gamma$ -GT : 감마 글루타미트 트랜스펩티다아제( $\gamma$ -glutamyl transpeptidase)

21) XO : 크산틴산화효소(Xanthine oxidase)

### Ⅲ. 실험재료 및 방법

#### 1. 실험재료

조직을 염색하기 위한 염색시약 헤마톡시린(hematoxylin)은 시그마회사(Sigma, USA)의 제품을, 면역 디텍션 키트(detection kit)는 벤타나사(Ventana Medical Systems, USA)의 제품을, 그 외 일반시약들은 특급품을 사용하였다.

실험기기로 혈액학분석기(Auto hematology analyzer/Hemavet, HV-950 FS, USA)를 사용하였다. 또한 생화학분석기(Auto biochemistry analyzer/Thermo, Konelab 20XT, Finland), 균질기(homogenizer/IKA, T25 basic, Malaysia), 원심분리기(mini centrifuge/Hitachi, MIKRO 200R, Japan), 전자저울(electronic balance/Sartorius, CP224S, Germany), 도립현미경(inverted microscope/Carl Zeiss, Axiovert 200, Germany), 절편기(Microtome/Leica, RM2235, Germany)를 사용하였다.

시료추출은 초고속 감압 저온 추출기(COSMOS-660, Korea)를 사용하였다. 조직학적실험의 관찰은 올림푸스 BX51 light microscope(Olympus, Japan), ProgRes C14 plus digital camera system(Olympus, Japan)을 사용하였다.

#### 2. 실험방법

##### 1) 생체외(In vitro) 항산화능 측정

###### (1) 전자공여능 측정

솔잎 열수추출물에 대한 전자공여능은 Blois(1958)의 방법으로 측정하였다. 솔잎 열수추출물 분말을 100, 500, 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 에탄올(ethanol)에 녹여 조제하고 1ml를 시험관(test tube)에 취하였다. 여기에  $4 \times 10^{-4}\text{M}$ 의 항산화효과측정(DPPH) 용액 4ml를 가하여 시험관혼합기(vortex mixer)로 10초간 진탕하고 실온에서 20분 동안 방치한 후에 520nm에서 흡광도를 측정하였다. 추출물 무첨가구에는 시료 대신 에탄올(ethanol) 1ml를 첨가하여 동일하게 실험하고 추출물 첨가구에 대한 흡광도의 감소비율로 전자공여능을 나타내었다.

양성대조군으로 합성 항산화제인 디부틸하이드록시 톨루엔(dibutyl hydroxy toluene, BHT)을 동일한 방법으로 실험하여 추출물이 가지는 환원력과 비교하였으며, 다음 식으로 전자공여능(%)을 구하였다.

$$\text{전자공여능(\%)} = \left( 1 - \frac{\text{추출물 첨가구의 흡광도}}{\text{추출물 무 첨가구의 흡광도}} \right) \times 100$$

## (2) 유해산소 대사 효소 활성 및 지질과산화 함량 측정

### ① 효소시료의 조제

피부 조직을 병냉 하에서 절취한 조직 중 일정량을 칭량한 후 4배량의 0.25M 인산완충액(phosphate buffer)을 가하여 유리테플론균질기(glass teflon homogenizer)를 이용하여 20%(w/v) 마쇄균질액을 만든다. 이 균질액을 600 $\times\text{g}$ 에서 10분간 원심 분리하여 핵 및 미 마쇄 부분을 제거한 다음 상층액을 10,000 $\times\text{g}$ 에서 20분간 원심분리한 후 상층액을 얻었다. 마쇄균질액은 티오바르비톨산(thiobarbituric acid) 반응에 사용하였고, 상층액은 효소 활성에 측정하였다.

## ② Xanthine oxidase (XO)

활성도 XO는 Stripe와 Della(1969)의 방법에 준하여 측정하였다. 활성도 단위는 효소액 중에 함유된 단백질 1mg이 1분 동안 반응하여 기질인 크산틴(xanthine)으로부터 생성된 요산(uric acid)의 양을 nmole로 표시하였다.

## ③ Superoxide dismutase (SOD)

피부 조직 중 SOD 활성도는 헤마톡시린(hematoxylin) 자동산화의 억제 정도를 관찰은 Martin 등(1987)의 방법에 따라 0.1mM 에틸렌디아민사아세트산(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)가 함유된 50mM 인산 완충액(pH 7.5)에 10 $\mu$ M 헤마톡시린 및 효소액을 가해 25 $^{\circ}$ C에서 반응시켜 생성된 헤마틴(hematein)을 560nm에서 측정하여 효소의 활성도를 산정하였다. 활성도 단위는 효소액을 넣지 않은 반응액 중의 헤마톡시린(hematoxylin) 자동산화를 50% 억제하는 정도를 1unit로 하여 단백질 1mg이 1분 동안 반응한 단위(unit)로 표시하였다.

## ④ Catalase (CAT)

CAT 활성도는 과산화수소수(hydrogen peroxide)를 기질로 하여 환원되는 정도를 파장 240nm에서 그 흡광도를 읽고 분자흡광계수( $E=0.04\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )를 이용하여 활성을 산출하는 Aebi(1984)의 방법에 준하였다. 활성도 단위는 피부 조직의 효소액 중에 함유된 단백질 1mg이 1분 동안 반응하여 감소되는 과산화수소(hydrogen peroxide)양을 nmole로 표시하였다.

## ⑤ Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS)

피부 조직 중 지질과산화 TBARS 시험은 Ohkawa 등(1979)의 방법에 따라 측정하였다. 효소 시료 속의 과산화지질을 산성조건 하에서 티오바르비톨산(thiobarbituric acid) 용액과 가열 반응시켜 생긴 TBARS의 흡광도를

500nm에서 측정하였다. TBARS 함량은 단백질 g당 nmole로 표시하였다.

### 3) 육모효과 생체내(In vivo) 실험

#### (1) 실험동물 및 처치

5주령의 C57BL/6(20~22g) 마우스를 대한바이오링크(주)에서 구입하여, 1주간 적응과정을 거쳐 등 부위를 제모한 후 난괴법에 의해 4개 군으로 군당 15마리씩 4주간 경피 도포하여 실험에 사용하였다. 사육실의 온도는  $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ , 습도는  $50\pm 5\%$ , 명암주기 12시간 밤과 낮 단위로 조절되는 표준사육 환경에서 사육하고 실험기간 동안 물과 사료(삼양사, 한국)의 양은 제한 없이 공급하였다.

실험동물은 1, 3, 4주째에 각각 5마리씩 처치하였으며, 12시간 전부터 절식시킨 후 에테르(ether) 마취하여 후대정맥에서 혈액을 채취하였고, 심장, 간, 신장(좌·우), 비장, 흉선을 적출하여 무게를 측정하였다. 피부조직의 형태 변화를 보기 위해 10% 중성포르말린 용액에 12시간 고정하였고, 일부의 조직은  $-80^{\circ}\text{C}$ 에서 냉동 보관하여 효소 활성 및 유전자 발현 검사에 사용하였다. 동물실험은 대구 파티마병원 병리학연구실에서 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 진행하였다.

#### <실험군의 분류>

대조군(C) : Saline 경피 도포군

양성대조군(PC) : 현대약품(한국) 3% minoxidil(MXD) 경피 도포군

실험군(E1) : 2% *Pine-needles* extracts(0.25g/kg BW/day 토너타입)

실험군(E2) : 4% *Pine-needles* extracts(0.50g/kg BW/day 토너타입)

## (2) 시료조제 및 도포

시료는 솔잎 600g을 경북 영천의 한약 재료상에서 구입하여 깨끗한 물로 세척 후 물 6ℓ를 가하여 100℃의 온도에서 60분간 초고속 감압 저온추출기로 열수 추출한 후 0.6ℓ로 농축하여 1일 투여량씩 진공 파우치 포장 후 냉장보관 하였다. 동결 건조로 측정된 솔잎추출물의 수율(yield rate)은 28.50%였다.

대조군(C)에서는 셀라인(Saline) 경피 도포를, 양성대조군(PC)에서는 현대약품(한국) 3%미녹시딜(MXD)을, 실험군에서 경피 도포 용량은 동결건조 수율에 따른 실험군(E1)에서 증류수(DW) 98ml : 동결건조 솔잎 추출물 2%(0.25g/kg BW/day)의 비율로, 실험군(E2)에서는 증류수(DW) 96ml : 동결건조 솔잎 추출물 4%(0.50g/kg BW/day)의 비율로 희석하여 냉동실에 보관 후 본 실험에 사용 시 실험군 분류에 따라 1일 2회 120 $\mu$ l씩, 주 6일, 4주간 경피 도포하여 실험하였다. 등 부위 털의 제거는 동물용 전기제모기(electric clipper, Japan)로 1.5cm×4cm로 제모한 후 도포하였다.

## (3) 체중, 식이량, 음수량 및 식이효율 측정

체중의 측정은 군(群)별로 개체들의 무게(g)을 측정하여 평균값으로 처리하였으며, 전체적인 군(群) 간의 체중변화를 관찰하여 시료에 의한 영향이 있는지 확인하였다. 식이량, 음수량 및 식이효율은 매주 1회 오전 10시에 측정하였다.

## (4) 장기의 무게 측정

독성실험의 일반적인 지표로서 대조군과 비교하여 각 기관의 생리적 기능을 진단하기 위해 적출한 비장, 흉선, 간장을 생리식염수로 씻어내고 수분을 여과지로 제거한 후 무게를 측정하였다.

#### (5) 혈액학적 분석

실험 처치 후 채취한 혈액을 혈액 응고 방지제인 K<sub>2</sub>-EDTA가 들어 있는 CBC(cell blood count) 채혈 병에 담아, 쿨터 믹서기(coulter mixer) 위에서 10분 이상 혼합한 후 동물전용 자동혈구분석기를 이용하여 백혈구수(white blood cell count, WBC), 호중구수(neutrophil count), 림프구수(lymphocyte count), 단핵구수(monocyte count), 호산구수(eosinophil count), 호염기구수(basophil count), 적혈구수(red blood cell count, RBC), 혈색소농도(hemoglobin concentration, Hb), 적혈구용적(hematocrit, HCT), 혈소판수(platelet count)를 측정하였다.

#### (6) 육안적 발모 관찰

제모한 등 부위의 발모상태를 실험 1, 3, 5주째에 주 1회 에테르 마취 후 ProgRes C14 plus digital camera system을 이용해서 모발의 성장 부위를 촬영하였다.

#### (7) 조직학적 관찰

피부 조직의 광학현미경적 변화를 관찰하기 위해 통상적인 조직처리 과정을 수행하였다. 적출된 피부 조직을 10% 중성 포르말린 용액에 12시간 고정하고 흐르는 물에 수세한 다음 탈수(에탄올 70%, 80%, 95%, 100%), 크실

렌(xylene)으로 투명, 파라핀 침투과정을 거쳐 포매(包埋)하였다. 그리고 조직 절편기(microtome)를 이용하여 4 $\mu$ m 두께의 박절편을 제작하여 크실렌에 탈 파라핀한 후, 함수 과정을 거쳐 흐르는 물에 수세하였다. 헤리스 헤마톡시린(Harris hematoxylin) 용액에 옮겨 5분간 핵을 염색한 후 흐르는 물에 수세하고 1% 염화수소-알콜(HCl-alcohol)용액으로 3회 침적 후 충분히 수세하여 1% 암모니아(ammonia)용액으로 청색화하며, 이오신(Eosin)용액에 3분간 세포질을 염색한 후 80% 에탄올에서 2분간 탈수 후 고농도 95% 1단계, 95% 2단계, 100% 1단계, 100% 2단계 에탄올 과정에서 2분간씩 탈수시켰다. 청명 과정을 거친 후 현미경 표본의 봉입에 사용되는 캐나다 발삼(USA)으로 봉입 후, 100배율 광학현미경으로 모낭수를 계수하고, 피부의 두께와 모낭 깊이의 변화는 현미경 프로그램의 스케일바(scale bar)를 이용하여 측정하였다.

## (8) 피부조직의 효소활성도 측정

### ① Alkaline phosphatase(ALP)

시험 1, 3, 5주에 피부 조직을 절취하여 병냉하에서 미세절편으로 만들고, 그 중 일정량을 칭량한 후, 피부조직의 4배량의 인산완충식염수(0.1M Phosphate buffer saline, PBS, pH 7.4)을 가하여 마쇄기(homogenizer)를 이용하여 균질액을 만들었다. 이 균질액을 원심분리기를 이용하여 4 $^{\circ}$ C에서 12,000 rpm으로 20분간 원심 분리하여 그 상층액을 자동생화학 분석기를 이용하여 분석하였다.

### ② $\gamma$ -glutamyl transpeptidase( $\gamma$ -GT)

시험 1, 3, 5주에 피부 조직을 절취하여 병냉하에서 미세절편으로 만들고, 그 중 일정량을 칭량한 후, 피부조직의 4배량의 인산완충식염수를 가하여

마쇄기를 이용하여 균질액을 만들었다. 이 균질액을 원심분리기를 이용하여 4°C에서 12,000 rpm으로 20분간 원심 분리하여 그 상층액을 자동생화학 분석기를 이용하여 분석하였다.

## (9) 피부조직의 분자생물학적 관찰

### ① RNA 추출

-80°C에서 냉동 보관하였던 피부 조직을 액화질소에 담아 이송한 후 드라이아이스로 저온을 유지시키며 조직 50mg당 1ml의 트리졸(Trizol/Invitrogen, New Zealand)을 첨가하여 조직을 마쇄하고 실온에서 5분간 배양(incubation)시킨 후 클로로폼(chloroform) 200 $\mu$ l를 첨가하여 실온에서 3분간 방치 후 15,000rpm, 4°C, 10분간 원심 분리 하였다. 상층액을 취한 후 이소프로필 알코올(isopropyl alcohol)을 500 $\mu$ l 첨가한 다음 15,000rpm, 4°C, 15분간 원심분리 후 상층액은 제거하고 70% 에탄올(ethanol) 1ml을 첨가하여 RNA 펠릿(pellet)을 씻고 15,000rpm, 4°C, 2분간 원심분리 하여 나온 상층액은 제거하고 남은 RNA 펠릿(pellet)을 실온에서 건조 후 디에틸피로카보네트(diethylpyrocarbonate, DEPC)로 회석하여 260nm에서 OD값을 측정하여 RNA를 정량하였다. 280nm에서 OD값을 측정하고 흡광도의 비율(A260/A280)이 1.8~2.0 사이인지 확인하였다.

### ② cDNA 합성

BioNEER사의 CycleScript RT PreMix(dT20) kit에서 제공하는 프로토콜(protocol)에 따라 전체 RNA 양이 0.1~1 $\mu$ g/ $\mu$ l가 되도록 RNA 표본을 넣고 DEPC를 20 $\mu$ l까지 채운 후 30°C에서 1분간, 50°C에서 4분간 12 순환(cycle) 반응시키고 95°C에서 5분간 가열하여 반응을 종결시켰다.

### ③ *Real-time* RT-PCR

BioNEER사의 *AccuPower*<sup>TM</sup> PCR PreMix kit를 구입하여 사용하였다. 템플릿(Template) 2 $\mu$ l, forward primer와 reverse primer(10pmole/l, BioNEER, Korea)를 각각 1.4 $\mu$ l, 멸균된 증류수 15.2 $\mu$ l를 섞고 중합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR/Bio-RAD, Mycycler<sup>TM</sup> thermal cycler, USA)을 실시하였다. Primer는 내부표준물질로 GAPDH(58 $^{\circ}$ C, 35 cycle)실험군으로 IGF-1(59 $^{\circ}$ C, 35 cycle), VEGF(59 $^{\circ}$ C, 35 cycle), TGF- $\beta$ 1(5 $^{\circ}$ C, 35 cycle)을 사용하였으며 사용된 primer들의 염기서열은 Table 2와 같다.

Table 2. Nucleotide sequence of the primers and expected size of *Real-time* RT-PCR product

Items	Primers	Expected size(bp) <sup>5)</sup>
GAPDH <sup>1)</sup>	Forward (5'→3') ATTCCATGGCACCGTCAAGGC	572
	Reverse (5'→3') TCAGGTCCACCACTGACACGT	
IGF-1 <sup>2)</sup>	Forward (5'→3') GGTAAGCGGAACCGTCATGCC	572
	Reverse (5'→3') CCACGTGGACTACTAGCACCT	
VEGF <sup>3)</sup>	Forward (5'→3') GTACAATGGCACCGTCAAGAC	572
	Reverse (5'→3') CCATTGCCCGCGTAAGACAT	
TGF- $\beta$ 1 <sup>4)</sup>	Forward (5'→3') CAGAAATACAGCAACAATTCCTGG	186
	Reverse (5'→3') TTGCAGTGTGTTATCCCTGCTGTC	

<sup>1)</sup>GAPDH: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

<sup>2)</sup>IGF-1: Insulin-like growth factor-1

<sup>3)</sup>VEGF: Vascular endothelial growth factor

<sup>4)</sup>TGF- $\beta$ 1: Transforming growth factor- $\beta$ 1

<sup>5)</sup>bp: basepair

## (10) 통계처리

SPSS 18.0 for windows(SPSS Inc., USA)를 이용하여 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였으며, 각 그룹 간의 차이를 검정하기 위해 Duncan's 다중검정을 이용하여 사후 분석을 실시하였다. 통계학적 유의수준은  $p < 0.05$ 로 하였다.

## IV. 연구 결과

### 1. 생체 외(In vitro) 항산화능 실험

#### 1) 전자공여능 측정

솔잎추출물에 대한 전자공여능을 측정한 결과는 Fig.3과 같다. 디부틸 히드록시톨루엔(Dibutylated hydroxytoluene, BHT)와 솔잎추출물(*Pine-needles water extract*, ASWE) 모두 농도가 증가함에 따라 전자공여능이 증가하는 양-반응 관계를 나타냈다. 솔잎추출물은 500 $\mu\text{g/ml}$ 에서 16.7%, 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 에서 31.8%를 보였으며 BHT에 비해 상대적으로 낮은 활성을 나타냈다.

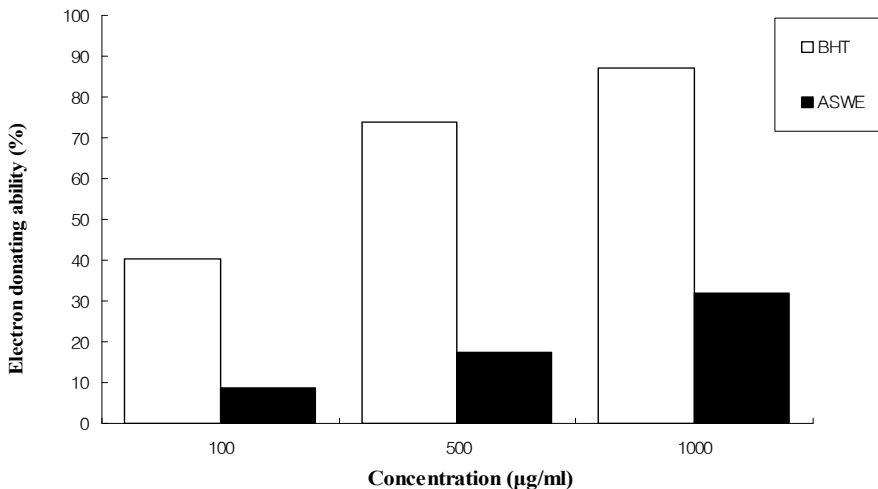


Fig 3. Electron donating abilities of *pine-needles* water extracts.

Values are mean of 3 replicates.

BHT : Dibutylated hydroxytoluene

ASWE : *Pine-needles* water extract

## 2) 유해산소 대사 효소 활성 및 지질과산화 함량 측정

### (1) 유해산소 대사 효소, 지질과산화 변동 측정

적출한 피부 조직의 유해산소 대사 효소 활성 및 지질과산화 함량 측정의 XO, SOD, CAT 활성치 및 TBARS 함량의 결과는 Table 3과 같다.

대조군에 비하여 양성대조군이 XO와 TBARS는 XO 40.1%, TBARS 45.0%로 각각 통계적으로 유의하게 낮았고, 대조군에 비하여 실험군 E1은 XO 50.0%, TBARS가 75.2% 실험군 E2에서는 XO 51.0%, TBARS 75.0%가 유의하게 낮았다( $p < 0.05$ ). 실험군(E1, E2)간의 XO와 TBARS 에서는 통계적 유의성을 나타내지 않았다. SOD와 CAT는 대조군에 비하여 양성대조군이 SOD와 CAT가 각각 42.1%, 35.0% 유의하게 높았고 대조군에 비하여 실험군 E1은 SOD 101.1%, CAT 100.0% 실험군 E2에서는 SOD 121.0%, CAT 75.2% 통계적으로 유의성 있게 증가하였다( $p < 0.05$ ). SOD와 CAT의 실험군(E1, E2)간의 비교 평가에서는 통계적으로 유의성이 있게 나타났으며 ( $p < 0.05$ ), SOD와 CAT는 실험군 E1 에서보다 실험군 E2에서 통계적으로 가장 높게 나타났다( $p < 0.05$ ).

**Table 3. Effect of *Pine-needles* extract on skin XO, SOD, CAT and TBARS activity in mice.**

Group	Control		Experimental	
	C	PC	E1	E2
XO <sup>1)</sup>	2.15±0.37 <sup>a</sup>	1.29±0.36 <sup>b</sup>	1.07±0.15 <sup>c</sup>	1.09±0.13 <sup>c</sup>
SOD <sup>2)</sup>	12.92±1.21 <sup>a</sup>	17.69±1.30 <sup>b</sup>	25.98±1.27 <sup>c</sup>	28.99±1.13 <sup>d</sup>
CAT <sup>3)</sup>	4.31±0.47 <sup>a</sup>	5.81±0.65 <sup>b</sup>	8.04±0.17 <sup>c</sup>	8.47±0.20 <sup>d</sup>
TBARS <sup>4)</sup>	4.07±0.15 <sup>a</sup>	2.25±0.70 <sup>b</sup>	1.03±0.20 <sup>c</sup>	1.01±0.30 <sup>c</sup>

Values are mean±SE of 5 mice.

Test compounds were topically applied to the backs of C57BL/6 mice for 4 weeks.

C: Saline

PC: 3% Minoxidil

E1: 2% *Pine-needles* toner

E2: 4% *Pine-needles* toner

<sup>1)</sup>Unit: nmole 2,4-dinitrobenzene–glutathione conjugate/mg protein/min

<sup>2)</sup>Unit: U (50% inhibition of autoxidation of hematoxylin)/mg protein/min

<sup>3)</sup>Unit: nmole H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> reduced/mg protein/min

<sup>4)</sup>Unit: nmole/mg protein

Values with different superscripts are significantly different (p<0.05) C group by ANOVA and Duncan's multiple range test.

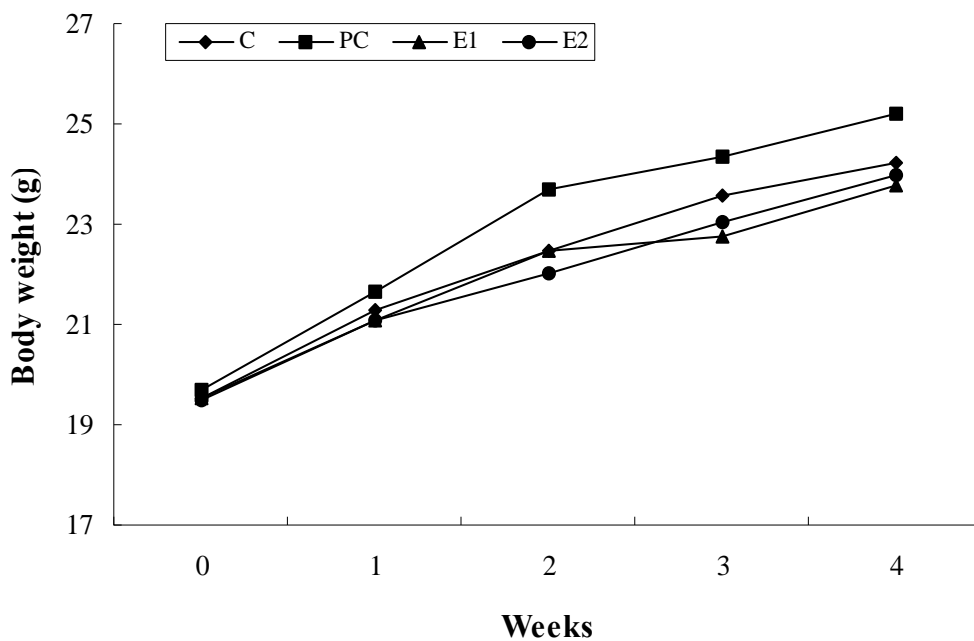
## 2. 육모효과 생체내(In vivo) 실험

### 1) 체중, 음수량 및 식이량, 식이효율 측정

체중, 식이량, 음수량 및 식이효율을 측정한 결과는 Table 4 및 Fig 4와 같다. 일일 체중 증가량 및 식이 효율에 있어서 대조군에 비하여 양성대조군이 다른 군에 비해 경미하게 높은 수치를 나타내긴 하였으나, 통계학적 유의성은 나타나지 않았다. 체중 변동에 있어서 실험기간 동안 대조군에 비하여 양성대조군이 다른 군에 비해 증가를 보였으나 대조군, 실험군(E1, E2) 모든 군에서 통계적 유의성은 관찰되지 않았다. 실험군 E1, E2간 비교에서 체중, 식이량, 음수량 및 식이효율의 변화는 있었으나 통계적 유의성은 없었다 ( $p < 0.05$ ).

Table 4. Changes of water and food intake, body weight gain and food efficiency ratio

Items	Groups			
	C	PC	E1	E2
Water intake (ml/day)	5.83±0.16	5.98±0.12	5.84±0.14	6.01±0.06
Food intake (g/day)	4.03±0.11	3.86±0.43	3.93±0.21	4.01±0.11
Body weight gain(g/day)	0.18±0.02	0.20±0.02	0.17±0.02	0.17±0.01
Food efficiency ratio <sup>1)</sup> (%)	4.21±1.03	4.94±0.60	4.04±0.69	4.09±0.52



**Fig 4. Changes of body weight in mice.**

Values are mean±SE of 5 mice.

Test compounds were topically applied to the backs of C57BL/6 mice for 4 weeks.

C: Saline

PC: 3% Minoxidil

E1: 2% *Pine-needles* toner

E2: 4% *Pine-needles* toner

<sup>1)</sup> Food efficiency ratio(%) = (Body weight gain / Food intake) × 100.

Values with different superscripts are significantly different (p<0.05) C group by ANOVA and Duncan's multiple range test.

## 2) 장기 무게 측정

적출한 장기의 심장, 비장, 간, 신장(좌·우) 및 흉선 무게를 측정한 결과는 Table 5와 같다. 심장과 간장은 대조군에 비해 양성대조군과 실험군(E1, E2)에서 약간의 무게가 증가하였으나 통계학적 유의성은 나타나지 않았다 ( $p < 0.05$ ). 비장, 신장(좌·우), 흉선은 모든 군에서 경미하게 무게의 변화가 관찰되었으나 군별에서는 유의성은 없었다( $p < 0.05$ ). 양성대조군, 실험군(E1, E2)은 대조군에 비해 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 비장 및 흉선의 절대무게와 상대무게에 있어서 모든 군에서 경미하게 무게의 변화가 관찰되었으나 통계학적 유의성은 인정되지 않았고, 실험군 E1, 실험군 E2간 비교에서 심장, 비장, 간, 신장(좌·우) 및 흉선의 무게 변화는 통계적 유의성이 나타나지 않았다( $p < 0.05$ ).

Table 5. Changes of absolute and relative organ weight in mice

Items	Group			
	C	PC	E1	E2
Heart	0.113±0.001 <sup>1)</sup>	0.123±0.005	0.124±0.005	0.124±0.003
	0.441±0.012 <sup>2)</sup>	0.511±0.014	0.531±0.027	0.512±0.032
Spleen	0.078±0.007	0.081±0.011	0.076±0.001	0.076±0.001
	0.324±0.034	0.324±0.042	0.323±0.059	0.313±0.014
Liver	1.085±0.023	1.135±0.083	1.109±0.053	1.108±0.063
	4.492±0.092	4.508±0.250	4.646±0.216	4.623±0.165
Kidney (left)	0.143±0.014	0.136±0.007	0.141±0.024	0.140±0.006
	0.585±0.062	0.554±0.015	0.584±0.112	0.573±0.031
Kidney (right)	0.147±0.013	0.146±0.008	0.149±0.004	0.149±0.008
	0.621±0.062	0.574±0.014	0.621±0.025	0.619±0.069
Thymus	0.072±0.001	0.073±0.005	0.066±0.007	0.069±0.001
	0.292±0.034	0.291±0.032	0.274±0.017	0.287±0.011

Values are mean±SE of 5 mice.

Test compounds were topically applied to the backs of C57BL/6 mice for 4 weeks.

<sup>1)</sup>Absolute weight: g

<sup>2)</sup>Relative weight: g/100 g body weight

C: Saline

PC: 3% Minoxidil

E1: 2% *Pine-needles* toner

E2: 4% *Pine-needles* toner

Values with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ) C group by ANOVA and Duncan's multiple range test.

### 3) 혈액학적 분석

기초대사성을 보기 위한 실험 4주 후 혈액학적 검사의 수치 변화에는 Table 6과 같다. 백혈구 수치변화에서는 대조군에 비하여 양성대조군에서는 통계적 유의성이 없었으며, 실험군 E1, 실험군 E2군은 대조군에 비해 통계학적 유의성 있게 나타났다( $p < 0.05$ ). 실험군 E1, 실험군 E2군 간은 통계적으로 유의한 차이가 없었다( $p < 0.05$ ). 특히 실험군 E1에서는 백혈구 중 염증관련 세포인 호중구에서 유의하게 증가 하였다( $p < 0.05$ ). 단핵구, 호산구, 호염기구와 적혈구 수치는 모든 실험군 간에서 통계적 유의성이 나타나지 않았다( $p < 0.05$ ).

혈색소, 적혈구용적과 혈소판에서 혈구세포의 변화는 모든 실험군에서 통계적 유의성이 없었다( $p < 0.05$ ).

**Table 6. Changes of hematological parameters in mice**

Items	Groups			
	C	PC	E1	E2
WBC(k/ $\mu$ l)	12.736 $\pm$ 0.231 <sup>a</sup>	12.705 $\pm$ 0.243 <sup>a</sup>	13.626 $\pm$ 0.315 <sup>b</sup>	13.675 $\pm$ 0.313 <sup>b</sup>
NEUT(k/ $\mu$ l)	4.989 $\pm$ 0.437 <sup>a</sup>	4.962 $\pm$ 0.239 <sup>a</sup>	5.609 $\pm$ 0.311 <sup>b</sup>	5.042 $\pm$ 0.356 <sup>a</sup>
LYMPH(k/ $\mu$ l)	7.652 $\pm$ 0.383	7.574 $\pm$ 0.327	7.840 $\pm$ 0.263	7.53 $\pm$ 0.147
MONO(k/ $\mu$ l)	0.072 $\pm$ 0.048	0.123 $\pm$ 0.057	0.184 $\pm$ 0.06	0.100 $\pm$ 0.036
EOSIN(k/ $\mu$ l)	0.038 $\pm$ 0.030	0.050 $\pm$ 0.064	0.025 $\pm$ 0.006	0.050 $\pm$ 0.035
BASO(k/ $\mu$ l)	0.008 $\pm$ 0.008	0.004 $\pm$ 0.005	0.003 $\pm$ 0.005	0.008 $\pm$ 0.005
RBC(M/ $\mu$ l)	562.400 $\pm$ 8.501	561.703 $\pm$ 8.952	562.130 $\pm$ 4.937	561.620 $\pm$ 5.287
HGB(g/dl)	17.180 $\pm$ 0.612	17.242 $\pm$ 0.231	17.272 $\pm$ 0.207	17.265 $\pm$ 0.328
HCT(%)	48.930 $\pm$ 0.821	49.022 $\pm$ 0.636	49.264 $\pm$ 0.530	49.272 $\pm$ 0.627
PLT (k/ $\mu$ l)	531.890 $\pm$ 14.292	532.030 $\pm$ 16.788	532.403 $\pm$ 9.317	532.850 $\pm$ 8.426

Values are mean $\pm$ SE of 5 mice.

Test compounds were topically applied to the backs of C57BL/6 mice for 4 weeks.

C: Saline

PC: 3% Minoxidil

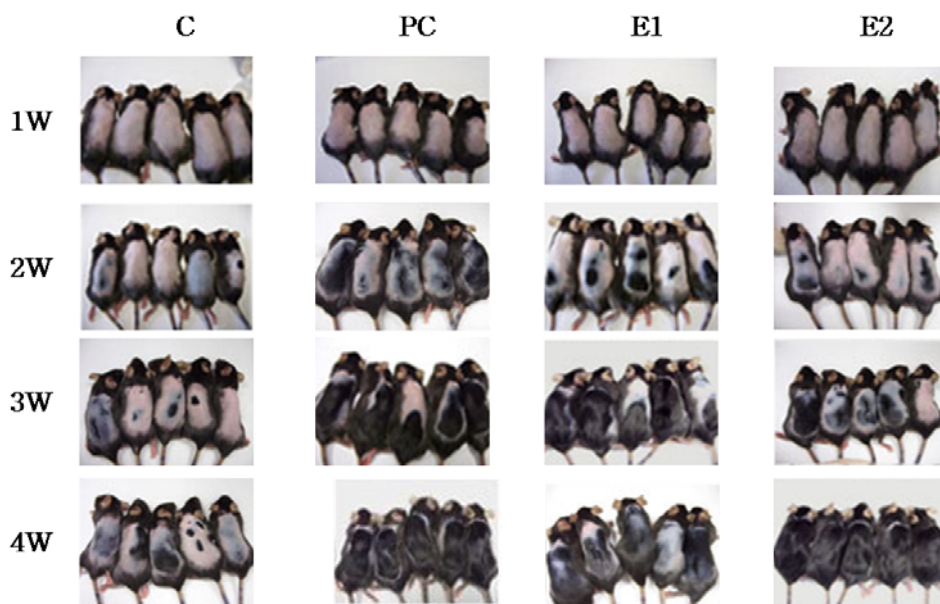
E1: 2% *Pine-needles* toner

E2: 4% *Pine-needles* toner

Values with different superscripts are significantly different (p<0.05) C group by ANOVA and Duncan's multiple range test.

#### 4) 육안적 발모 관찰

대한바이오링크(주)에서 구입한 5주령의 실험모델인 C57BL/6 마우스의 등 부위를 발모제거기를 이용하여 제모한 등 부위 발모상태를 육안으로 관찰한 결과는 Fig 5 및 Table 7과 같다. 실험 1주째에는 제모한 등 부위에서는 대조군, 양성대조군, 실험군 E1, 실험군 E2 모든 군의 모발이 자라지 않았으나 실험 2주째부터 조금씩 자라기 시작하여 양성대조군과 실험군 E1, 실험군 E2, 대조군 순으로 등 부위 쪽에 털이 다르게 발모되는 것이 관찰되었다. 특히 양성대조군과 실험군 E1에서는 뚜렷하게 털이 자라 대조군과는 차이가 나는 모습이 관찰되었다. 실험 3주째에는 모든 군의 마우스 등 부위 쪽에서 털이 많이 자라는 것을 관찰할 수 있었으나 실험군 E2보다는 양성대조군과 실험군 E1에서 50%이상의 모발 성장이 되어 다른 군에 비하여 확연한 차이를 보이기 시작하였다. 실험 4주째에는 양성대조군 84%, 실험군 E1에서 68%의 모발 성장을 보였으며 실험군 E2에서는 90%의 높은 모발 성장이 나타났다. 반면 대조군에서는 다른 모든 실험군에 비하여 미미한 모발성장(40%)을 보여 통계적으로 유의한 차이를 확인할 수 있었다( $p < 0.05$ ). 실험군 E1, E2군간 비교에서 3주차에서는 큰 변화를 확인할 수 없었으나( $p < 0.05$ ), 4주차에서는 E1군에서 보다 E2군에서 유의하게 더 발모되었으며 양성대조군과 동일한 발모 양상을 보여 도포된 %용량에 따라 다르게 발모되는 모습이 관찰되었다( $p < 0.05$ ).



**Fig 5. Photographs of hair growth in mice.**

Photographs of hair growth in mice. Test compounds were topically applied to the back of C57BL/6 mice for 4 weeks. C: saline group, PC: 3% minoxidil group, E1: 2% *Pine-needles* toner group, E2: 4% *Pine-needles* toner group. From weeks 2, the clear darkening, and as the experiment progressed, they showed to have a significantly greater hair growth promoting effect compared to the C groups.

**Table 7. Comparison of the hair growth effect in mice**

Weeks	Groups			
	C	PC	E1	E2
1	-	-	-	-
2	-	±	±	±
3	±	+	+	+
4	+	+++	++	+++

Test compounds were topically applied to the backs of C57BL/6 mice for 4 weeks and the hair growth in photographs was evaluated using Hair growth scoring index: 0-19%(-), 20-39%(±), 40-59%(+), 60-79%(++), 80-100(+++).

C: Saline

PC: 3% Minoxidil

E1: 2% *Pine-needles* toner

E2: 4% *Pine-needles* toner

Values with different superscripts are significantly different (p<0.05) C group by ANOVA and Duncan's multiple range test.

## 5) 조직학적 형태 관찰

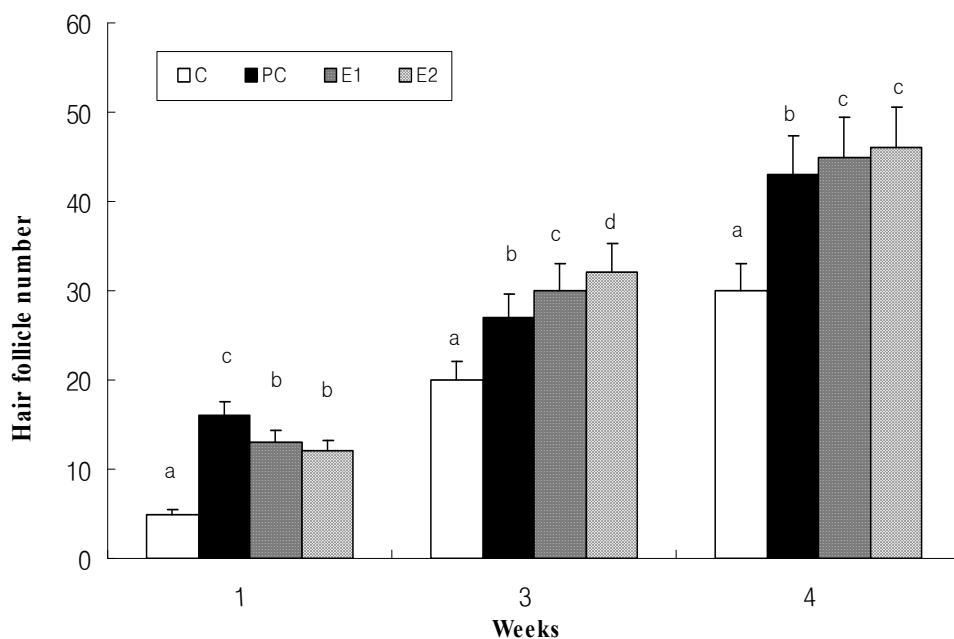
### (1) Hematoxylin and eosin(H&E) Staining

#### ① 모낭 수

실험된 등 부위를 절취한 피부 조직을 H&E로 염색하여 광학현미경으로 관찰한 결과는 Table 8 및 Fig 6과 같다. 100배율에서 육안으로 확인된 모낭의 수는 1주차에서 대조군에 비해 양성대조군, 실험군 E1, 실험군 E2군에서 통계적으로 유의하게 증가하였고 양성대조군과 실험군 비교에서도 유의성이 있었으며, 실험군 E1과 E2는 유의성이 없었다( $p < 0.05$ ). 3주차에서는 대조군에 비해 양성대조군, 실험군 E1, 실험군 E2 모든 군에서 유의성 있게 나타났으며, 실험군 E1과 E2간 비교에서도 유의성이 나타났다( $p < 0.05$ ). 4주차에서는 대조군에 비해 모든 군에서 증가하는 경향이 확인하여 통계적 유의성을 보였고, 실험군 E2, E1 > 양성대조군 > 대조군 순으로 높은 모낭수의 증가를 보였다( $p < 0.05$ ).

**Table 8. Changes of hair follicle number in the skin of mice.**

Weeks	Groups			
	C	PC	E1	E2
1	8.12±0.47 <sup>a</sup>	17.35±0.36 <sup>c</sup>	15.27±0.11 <sup>b</sup>	14.29±0.16 <sup>b</sup>
3	20.42±1.21 <sup>a</sup>	27.69±1.40 <sup>b</sup>	31.36±1.17 <sup>c</sup>	34.89±1.12 <sup>d</sup>
4	29.36±1.17 <sup>a</sup>	43.31±0.65 <sup>b</sup>	46.64±0.15 <sup>c</sup>	47.07±0.41 <sup>c</sup>



**Fig 6. Changes of hair follicle number in the skin of mice.**

Values are mean±SE of 4, 5 mice at 1, 3, 4 week, respectively.

Test compounds were topically applied to the backs of C57BL/6 mice for 4 weeks.

The hair follicle number was determined by the average of three different fields with an eyepiece of ×100 magnification.

C: Saline

PC: 3% Minoxidil

E1: 2% *Pine-needles* toner

E2: 4% *Pine-needles* toner

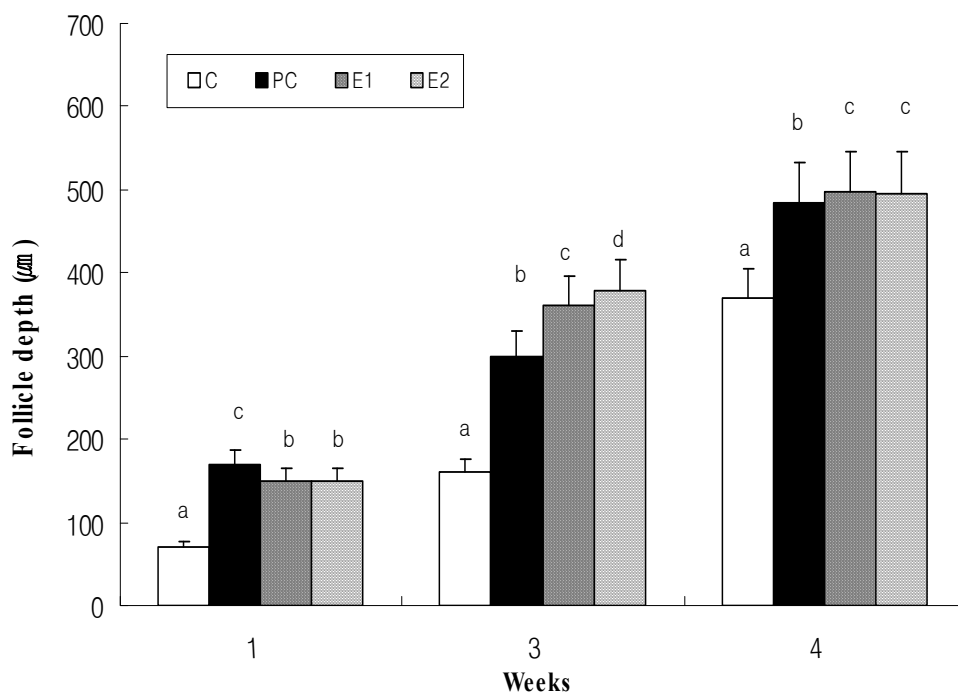
Values with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ) C group by ANOVA and Duncan's multiple range test.

## ② 모낭깊이( $\mu\text{m}$ )

절취한 피부 조직을 H&E로 염색하여 광학현미경으로 관찰한 결과는 Table 9 및 Fig 7과 같다. 모낭깊이( $\mu\text{m}$ )에 있어서 100배율의 스케일 바(scale bar)를 이용하여 측정한 결과 1주차에서 양성대조군이 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였고, 양성대조군과 실험군간 비교에서도 유의성이 있었으며, 실험군 E1과 E2에서는 유의성이 없었다( $p < 0.05$ ). 3주차에서는 대조군에 비해 양성대조군, 실험군 E1, 실험군 E2 모든 군에서 통계적으로 유의성 있게 나타났으며, 실험군 E1과 E2간 비교에서도 유의성이 나타났다( $p < 0.05$ ). 4주차에서는 대조군에 비해 모든 군에서 모낭깊이가 증가하여 통계적 유의성을 보였고, 실험군 E1, E2 비교에서는 모낭깊이의 차이를 보이지 않았다( $p < 0.05$ ).

**Table 9. Changes of hair follicle depth in the skin of mice.**

Weeks	Groups			
	C	PC	E1	E2
1	97.14±0.17 <sup>a</sup>	182.29±0.34 <sup>c</sup>	176.08±0.15 <sup>b</sup>	177.09±0.16 <sup>b</sup>
3	178.92±1.21 <sup>a</sup>	300.69±1.30 <sup>b</sup>	363.98±1.27 <sup>c</sup>	384.99±1.13 <sup>d</sup>
4	371.31±0.27 <sup>a</sup>	485.81±0.36 <sup>b</sup>	510.04±0.19 <sup>c</sup>	506.77±0.39 <sup>c</sup>



**Fig 7. Changes of hair follicle depth in the skin of mice.**

Values are mean±SD of 4, 5 mice at 1, 3, 4 week, respectively.

Test compounds were topically applied to the backs of C57BL/6 mice for 4 weeks.

The hair follicle depth was determined by the average of three different fields with an eyepiece of ×100 magnification.

C: Saline

PC: 3% Minoxidil

E1: 2% *Pine-needles* toner

E2: 4% *Pine-needles* toner

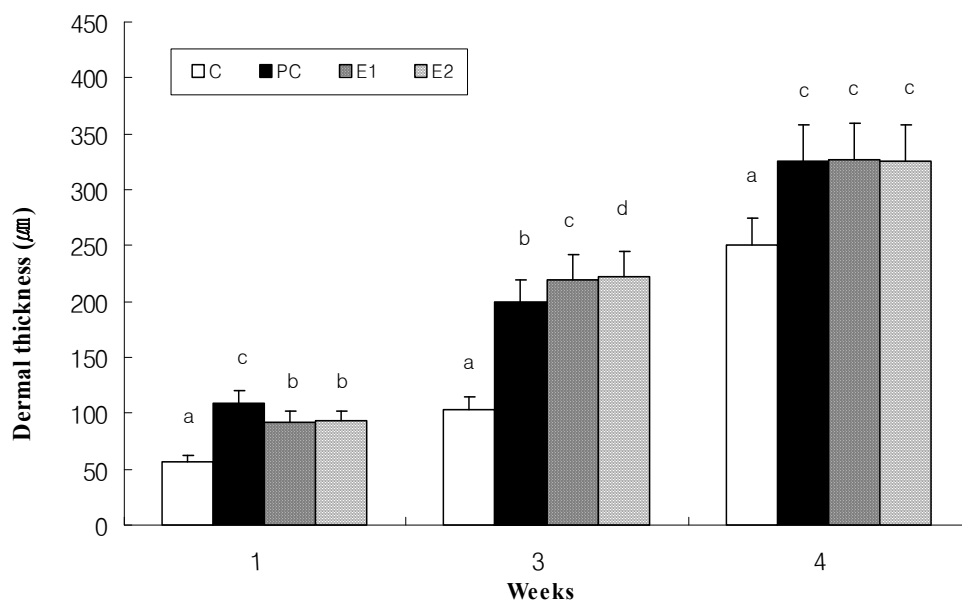
Values with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ) C group by ANOVA and Duncan's multiple range test.

### ③ 피부 두께 ( $\mu\text{m}$ )

피부 두께( $\mu\text{m}$ )를 100배율에서 스케일 바(scale bar)를 이용하여 측정한 결과는 Table 10 과 Fig 8, Fig 9과 같다. 1주차에서 양성대조군이 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였고, 양성대조군과 실험군 E1, 실험군 E2 비교에서도 유의성이 있었으며, 실험군 E1과 E2에서는 유의성이 없었다( $p < 0.05$ ). 3주차에서는 대조군에 비해 양성대조군, 실험군 E1, 실험군 E2 모든 군에서 유의성 있게 나타났으며, 실험군 E1과 E2간 비교에서도 유의성이 나타났다( $p < 0.05$ ). 4주차에서는 대조군에 비해 모든 군에서 피부 두께가 더 많이 성장된 것과 두꺼워짐을 알 수 있었고 통계학적 유의성도 보였으며, 양성대조군과 실험군 E1, E2간 비교에서는 두께의 차이를 보이지 않았다( $p < 0.05$ ).

**Table 10. Changes of dermal thickness in the skin of mice.**

Weeks	Groups			
	C	PC	E1	E2
1	56.15±0.19 <sup>a</sup>	111.29±0.26 <sup>c</sup>	99.07±0.15 <sup>b</sup>	100.09±0.41 <sup>b</sup>
3	112.92±1.21 <sup>a</sup>	202.69±1.60 <sup>b</sup>	219.98±1.17 <sup>c</sup>	225.36±1.52 <sup>d</sup>
4	253.41±0.45 <sup>a</sup>	348.81±1.45 <sup>c</sup>	352.04±0.26 <sup>c</sup>	349.47±0.52 <sup>c</sup>



**Fig 8. Changes of dermal thickness in the skin of mice.**

Values are mean±SE of 4, 5 mice at 1, 3, 4 week, respectively.

Test compounds were topically applied to the backs of C57BL/6 mice for 4 weeks.

The dermal thickness was determined by the average of three different fields with an eyepiece of ×100 magnification.

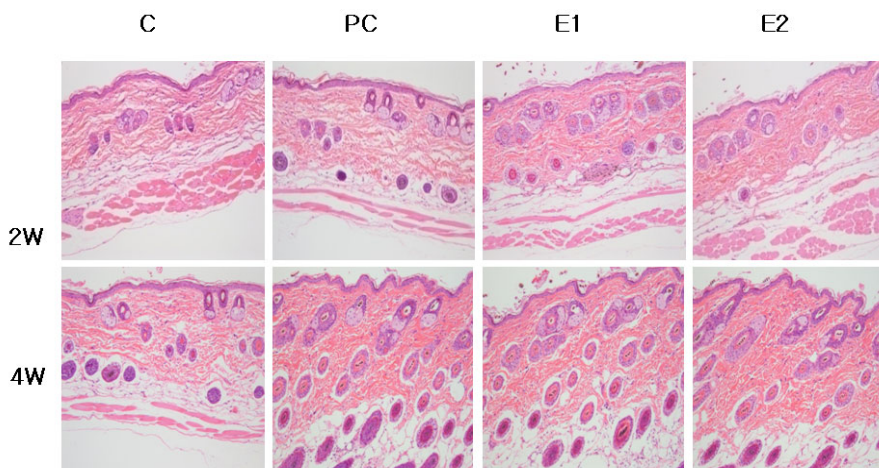
C: Saline

PC: 3% Minoxidil

E1: 2% *Pine-needles* toner

E2: 4% *Pine-needles* toner

Values with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ) C group by ANOVA and Duncan's multiple range test.



**Fig 9. Histological observation in the back skin of mice.**

Test compounds were topically applied to the back of C57BL/6 mice for 4 weeks. C: saline group, PC: 3% minoxidil group, E1: 2% *Pine-needles* toner group, E2: 4% *Pine-needles* toner group. Hematoxylin and eosin staining,  $\times 100$ , scale bar  $100\mu\text{m}$ . as the experiment progressed, the hair follicle number and depth in the PC and E1, E2 groups were significantly increased compared to the C group, and the dermal layer was observed to be thicker.

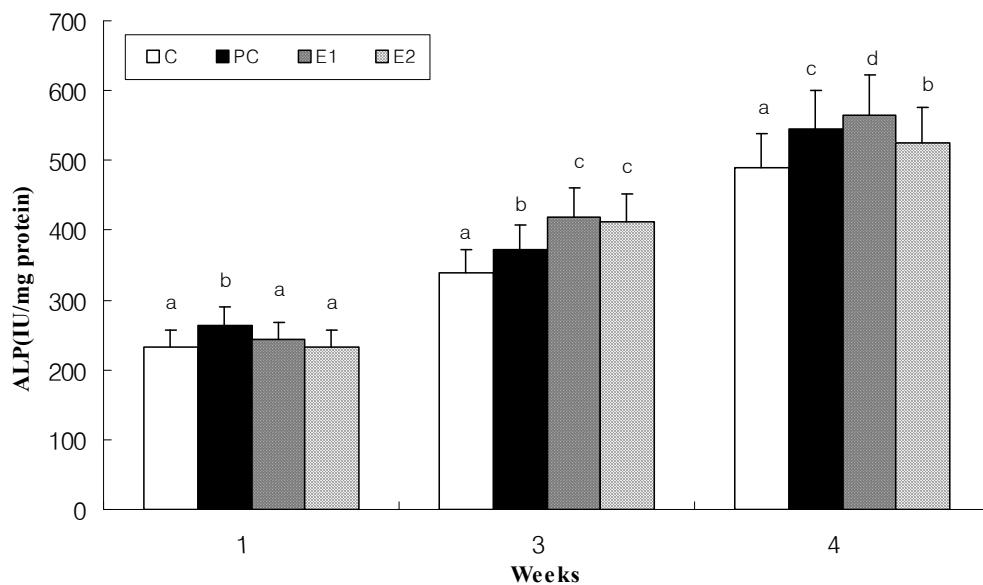
## 6) 피부조직의 효소 활성화 측정

### (1) Alkaline phosphatase(ALP)

피부조직 내 ALP의 효소 활성화 측정의 결과는 Table 11 및 Fig 10과 같다. 1주차에서 대조군에 비해 양성대조군에서 18%의 통계적 유의성이 나타났으며( $p < 0.05$ ), 실험군 E1, 실험군 E2에서는 유의성이 나타나지 않았다. 3주차에서는 대조군에 비해 양성대조군, 실험군 E1, 실험군 E2 모든 군에서 유의성 있게 나타났으며 실험군 E1, 실험군 E2 비교에서는 유의성을 나타나지 않았다. 4주차에서는 대조군에 비해 모든 군에서 증가하는 경향을 나타내어 통계적 유의성을 보였으며, 실험군 E1 > 실험군 E2 > 양성대조군 > 대조군 순으로 높은 활성을 보였다( $p < 0.05$ ).

Table 11. Changes of alkaline phosphatase activity in the skin of mice.

Weeks	Groups			
	C	PC	E1	E2
1	223.57±0.32 <sup>a</sup>	286.29±0.86 <sup>b</sup>	225.32±0.14 <sup>a</sup>	220.69±0.18 <sup>a</sup>
3	341.92±1.21 <sup>a</sup>	374.69±1.32 <sup>b</sup>	405.38±1.27 <sup>c</sup>	402.44±1.13 <sup>c</sup>
4	500.31±0.47 <sup>a</sup>	568.47±0.85 <sup>b</sup>	581.04±0.16 <sup>d</sup>	542.81±0.74 <sup>c</sup>



**Fig 10. Changes of alkaline phosphatase activity in the skin of mice.**

Values are mean±SE of 4, 5 mice at 1, 3, 4 week, respectively.

Test compounds were topically applied to the backs of C57BL/6 mice for 4 weeks.

C: Saline

PC: 3% Minoxidil

E1: 2% *Pine-needles* toner

E2: 4% *Pine-needles* toner

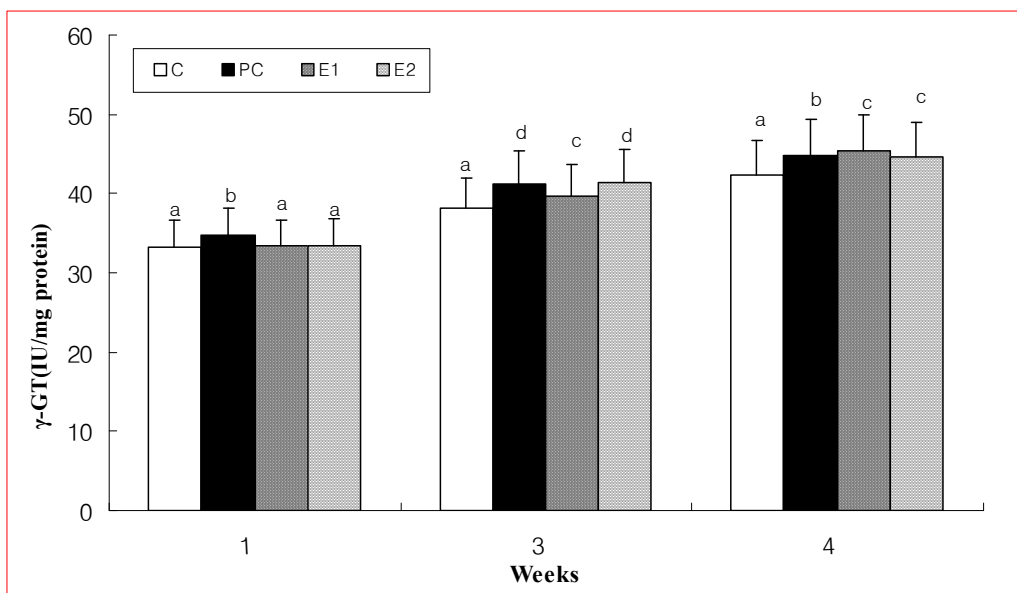
Values with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ) C group by ANOVA and Duncan's multiple range test.

## (2) $\gamma$ -Glutamyl transpeptidase( $\gamma$ -GT)

피부조직 내  $\gamma$ -GT 활성도를 주차별로 측정한 결과는 Table 12 및 Fig 11 같다. 1주차에서 대조군에 비해 양성대조군에서 16%의 통계적 유의성이 나타났으며 실험군 E1, 실험군 E2 에서는 유의성이 나타나지 않았다( $p < 0.05$ ). 3주차에서는 대조군에 비해 양성대조군, 실험군 E1, 실험군 E2 모든 군에서 유의성 있게 나타났으며 실험군간 비교에서는 실험군 E2에서 더 높은 활성도를 나타내었다. 4주차에서는 대조군에 비해 모든 군에서 증가하는 경향을 나타내어 통계적 유의성을 보였으며, 실험군(E1, E2) > 양성대조군 > 대조군 순으로 높은 활성을 보였다( $p < 0.05$ ).

**Table 12. Changes of  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase activity in the skin of mice.**

Weeks	Groups			
	C	PC	E1	E2
1	33.15±0.25 <sup>a</sup>	36.29±0.38 <sup>b</sup>	32.89±0.15 <sup>a</sup>	33.03±0.12 <sup>a</sup>
3	36.92±1.34 <sup>a</sup>	42.69±1.20 <sup>d</sup>	38.57±1.43 <sup>c</sup>	41.57±1.67 <sup>d</sup>
4	41.61±0.43 <sup>a</sup>	43.81±0.65 <sup>b</sup>	46.04±0.19 <sup>c</sup>	45.68±0.10 <sup>c</sup>



**Fig 11. Changes of  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase activity in the skin of mice.**

Values are mean $\pm$ SE of 4, 5 mice at 1, 3, 4 week, respectively.

Test compounds were topically applied to the backs of C57BL/6 mice for 4 weeks.

C: Saline

PC: 3% Minoxidil

E1: 2% *Pine-needles* toner

E2: 4% *Pine-needles* toner

Values with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ) C group by ANOVA and Duncan's multiple range test.

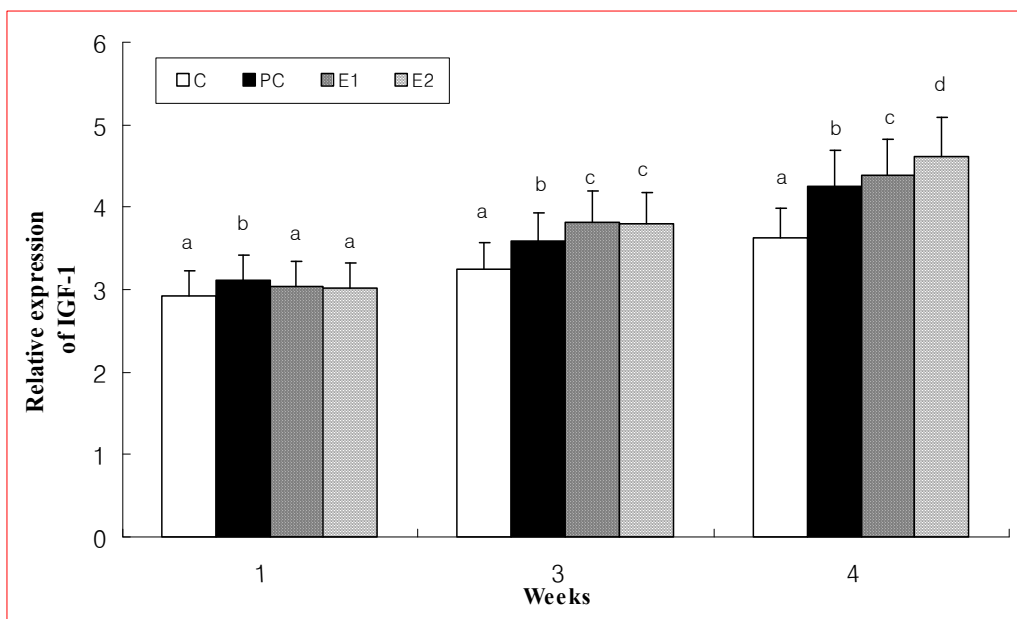
## 7) 피부조직의 분자생물학적 변화

### (1) Insulin-like growth factor-1(IGF-1)

피부조직 내 IGF-1 mRNA의 성장인자 발현량을 *Real-time* RT-PCR을 이용하여 분석한 결과는 Table 13과 Fig 12와 같다. 1주차에서 대조군에 비하여 양성대조군에서 14%의 통계적 유의성이 나타났으며 실험군 E1, 실험 E2 에서는 유의성이 나타나지 않았다( $p < 0.05$ ). 3주차에서는 대조군에 비해 양성대조군 14%, 실험군 E1 24%, 실험군 E2 23%의 유의성 있게 나타났으며 실험군간 비교에서는 차이가 나타나지 않았다( $p < 0.05$ ). 4주차에서의 IGF-1 mRNA의 발현 양상은 군별로 주차별 변화에 따른 모발성장과 함께 증가하는 경향을 보였으며, 대조군에 비해 모든 군에서 통계적으로 유의성 있게 증가하여 실험군 E2 > 실험군 E1 > 양성대조군 > 대조군 순으로 높은 활성을 보였다.

Table 13. Changes of Insulin-like growth factor-1 mRNA expression in the skin of mice.

Weeks	Groups			
	C	PC	E1	E2
1	2.95±0.11 <sup>a</sup>	3.22±0.36 <sup>b</sup>	2.67±0.12 <sup>a</sup>	2.59±0.15 <sup>a</sup>
3	3.22±1.51 <sup>a</sup>	3.63±1.62 <sup>b</sup>	3.91±1.48 <sup>c</sup>	3.99±1.43 <sup>c</sup>
4	3.69±0.67 <sup>a</sup>	4.31±0.45 <sup>b</sup>	4.54±0.51 <sup>c</sup>	4.77±0.11 <sup>d</sup>



**Fig 12. Changes of Insulin-like growth factor-1 mRNA expression in the skin of mice.**

Values are mean±SE of 4, 5 mice at 1, 3, 4 week, respectively.

Test compounds were topically applied to the backs of C57BL/6 mice for 4 weeks.

C: Saline

PC: 3% Minoxidil

E1: 2% *Pine-needles* toner

E2: 4% *Pine-needles* toner

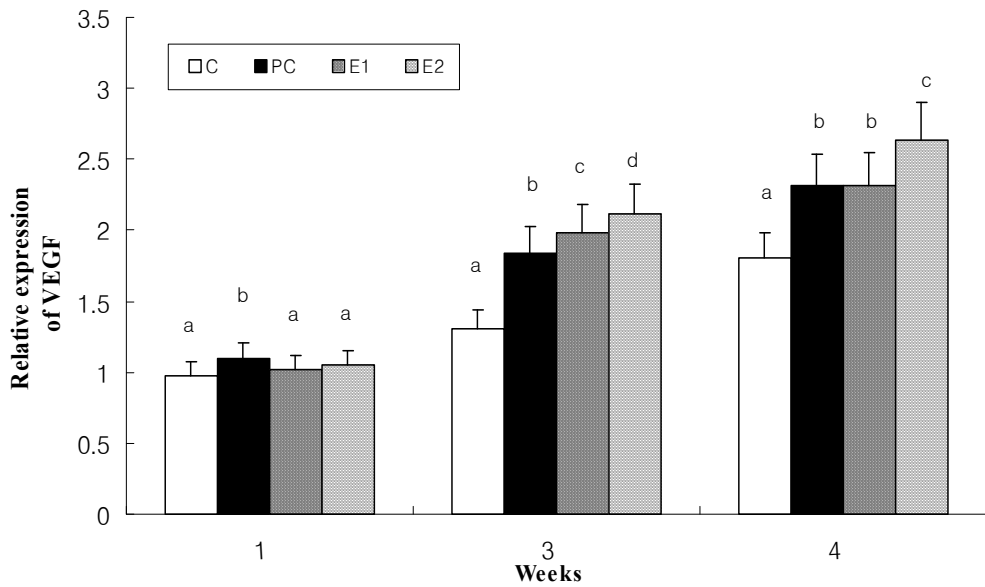
Values with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ) C group by ANOVA and Duncan's multiple range test.

## (2) Vascular endothelial growth factor(VEGF)

피부조직 내 VEGF mRNA의 발현량을 *Real-time* RT-PCR을 이용하여 분석한 결과는 Table 14 및 Fig 13과 같다. 1주차에서 대조군에 비하여 양성대조군에서 12%의 유의성이 나타났으며 실험군 E1, 실험군 E2에서는 유의성이 나타나지 않았다( $p < 0.05$ ). 3주차에서는 대조군에 비해 모든 군에서 유의성이 있었으며 양성대조군에서 31%, 실험군 E1 36%, 실험군 E2 43%의 통계적 유의성이 나타났다( $p < 0.05$ ). 4주차에서의 VEGF mRNA의 발현양상은 군별 간 주차별 변화에 따른 모발 성장과 함께 증가하는 경향을 보였으며, 실험군 E2 > 실험군 E1 > 양성대조군 > 대조군 순으로 높은 활성을 보였으며, 실험군 E2에서 가장 높은 발현량이 나타났다.

Table 14. Changes of Vascular endothelial growth factor mRNA expression in the skin of mice.

Weeks	Groups			
	C	PC	E1	E2
1	1.05±0.37 <sup>a</sup>	1.31±0.36 <sup>b</sup>	1.06±0.15 <sup>a</sup>	1.05±0.16 <sup>a</sup>
3	1.42±1.21 <sup>a</sup>	1.89±1.30 <sup>b</sup>	2.02±1.27 <sup>c</sup>	2.35±1.12 <sup>d</sup>
4	1.78±0.47 <sup>a</sup>	2.47±0.65 <sup>b</sup>	2.48±0.17 <sup>b</sup>	2.83±0.10 <sup>c</sup>



**Fig 13. Changes of Vascular endothelial growth factor mRNA expression in the skin of mice.**

Values are mean±SD of 4, 5 mice at 1, 3, 4 week, respectively.

Test compounds were topically applied to the backs of C57BL/6 mice for 4 weeks.

C: Saline

PC: 3% Minoxidil

E1: 2% *Pine-needles* toner

E2: 4% *Pine-needles* toner

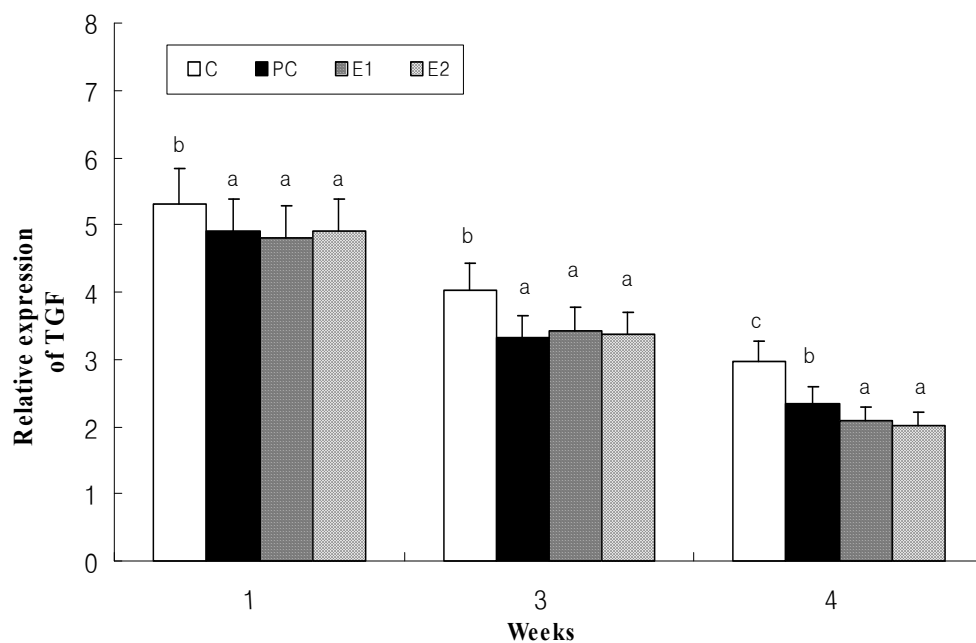
Values with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ) C group by ANOVA and Duncan's multiple range test.

### (3) Transforming growth factor-β1(TGF-β1)

피부조직 내 저해인자 TGF-β1 mRNA의 발현량을 *Real-time* RT-PCR을 이용하여 평가한 결과는 Table 15 및 Fig 14와 같다. 1주차에서 대조군에 비하여 양성대조군, 실험군 E1, 실험군 E2에서 유의성 있게 나타났으며 ( $p < 0.05$ ). 3주차에서는 저해인자 성분의 발현량이 많이 줄어들었으며 대조군에 비해 모든 군에서 유의성 있게 나타났고 양성대조군, 실험군 E1, 실험군 E2 군 간은 유의성이 나타나지 않았다( $p < 0.05$ ). 4주차에서의 TGF-β1 mRNA의 저해인자 발현량은 군별 간 1, 3주차별 변화에서 보다 많이 줄어들었으며 대조군에 비하여 양성대조군, 실험군 E1, 실험군 E2에서 유의성이 나타났다( $p < 0.05$ ). 양성대조군에 비해 실험군 E1, 실험군 E2 군에서도 유의성을 보였으며, 실험군 간 비교에서는 유의성이 없었다.

Table 15. Changes of Transforming growth factor-β1 mRNA expression in the skin of mice.

Weeks	Groups			
	C	PC	E1	E2
1	5.35±0.16 <sup>b</sup>	4.89±0.24 <sup>a</sup>	4.91±0.13 <sup>a</sup>	4.95±0.27 <sup>a</sup>
3	4.12±0.31 <sup>b</sup>	3.62±1.13 <sup>a</sup>	3.70±0.46 <sup>a</sup>	3.69±1.24 <sup>a</sup>
4	3.42±1.12 <sup>c</sup>	2.74±0.26 <sup>b</sup>	2.50±0.24 <sup>a</sup>	2.49±0.97 <sup>a</sup>



**Fig 14. Changes of Transforming growth factor- $\beta$ 1 mRNA expression in the skin of mice.**

Values are mean $\pm$ SE of 4, 5 mice at 1, 3, 4 week, respectively.

Test compounds were topically applied to the backs of C57BL/6 mice for 4 weeks.

C: Saline

PC: 3% Minoxidil

E1: 2% *Pine-needles* toner

E2: 4% *Pine-needles* toner

Values with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ) C group by ANOVA and Duncan's multiple range test.

## V. 고 찰

현대 의학의 발전에 따라 각종 의약품이 개발되고 치료에 응용되고 있으나 여전히 만성적인 탈모 치료와 개선에는 한계가 있으며, 또한 지속적인 약물사용에 따른 부작용도 많이 발생하고 있다(Kamimura & Takahashi, 2005). 이에 최근에는 다양한 천연물질을 소재로 한 탈모와 육모연구가 활발하게 진행되고 있으며, 특히 한약재로 검증되어 사용 중인 생약 추출물을 활용한 경우가 많은 비중을 차지하고 있다. 따라서 독성이 없고 치료 효과가 입증된 천연물질의 필요성이 높게 대두되고 있다. 이를 위해 천연물질 중의 하나이며 항산화작용에 대표적 물질인 솔잎추출물에 대해 기능학적 및 형태학적 영향을 분석하는 것은 솔잎이 중요한 기능성 성분으로 개발 및 활용될 수 있는 기반 연구 차원에서 매우 의의가 있을 것이다.

이에 본 연구에서는 솔잎추출물의 모발성장 촉진 효과를 연구하기 위해 생체의 실험(*in vitro*)에서의 항산화능 측정과 생체내 실험(*in vivo*)에서 육모 효능 실험을 실시하였다.

첫째, 생체의 실험 연구 결과를 살펴보면, 솔잎추출물의 전자공여능을 측정한 결과는 항산화제인 BHT와 솔잎추출물 모두 농도가 증가함에 따라 전자 공여능이 증가하는 양-반응 관계를 나타내어 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 16.7%, 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 31.8%를 보였으며, BHT에 비해 상대적으로 낮은 활성을 나타내었다. 이는 DPPH 방법에서 식물추출물의 산화를 억제하는 작용이나 화합물의 자유라디칼 소거능을 확인하고, 세포의 생존과 활동을 위해 산소를 필요로 하며 섭취된 산소를 에너지 합성에 관여하고 이를 통해 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)에 영향을 미친다(Clarkson & Thompson, 2000)는 선행 연구와 동일하였으며, 과도하게 생성된 활성산소종은 체내의

조직에 영향을 주어 세포에 손상을 주며, 활성 라디칼에 전자를 공여하여 지방질 산화와 인체 내 활성 라디칼에 의한 노화를 억제하는 척도로도 이용될 수 있다는 연구 결과로 볼 때(Ahn et al., 2007), 솔잎추출물은 DPPH 라디칼 소거능 측정에 의해 농도 의존성 반응과 함께 증가함을 알 수 있었다.

적출한 피부 조직의 유해산소 대사 효소 활성 변동의 함량은 대조군에 비하여 양성대조군이 XO와 TBARS가 각각 통계적으로 유의하게 낮았고, 대조군에 비하여 실험군(E1, E2)에서는 유의하게 낮았다( $p < 0.05$ ). 실험군(E1, E2) 간의 통계적 유의성은 나타나지 않았다.

SOD와 CAT는 대조군에 비하여 양성대조군이 유의하게 높았고 대조군에 비하여 실험군(E1, E2)에서는 통계적으로 유의하게 증가하였다( $p < 0.05$ ). 실험군(E1, E2) 간은 통계적 유의성이 있었으며, E1에서보다 E2에서 가장 높게 나타났다( $p < 0.05$ ).

이를 볼 때 산화를 촉매하는 XO와 TBARS의 저해효과는 활성산소의 생성을 저해하여 항 노화 및 항산화 등과 연관되므로 생물학적으로 중요한 의의를 가진다(Marian et al., 2004)는 선행연구와 동일한 형태로 나타났다. 이를 볼 때 솔잎추출물은 산화방지는 물론 노화 억제와도 밀접한 관련이 있는 SOD 및 CAT의 유사활성도 측정은 탈모와 항산화능에 직접적인 연관성이 있음을 알 수 있다. 또한 Keith(2002)의 연구에서 항산화능이 발모 촉진 효과에 많은 영향이 미친다는 결과로 볼 때 본 연구에서는 우수한 항산화능이 확인된 솔잎추출물이 인체에 유해한 활성산소종의 방어기전으로 작용되었다는 것을 알 수 있으며, 모낭 생장주기에도 영향을 미쳐 육모 촉진과 탈모예방에 작용된 것으로 볼 수 있다.

둘째, 생체내실험에서 실험동물의 생리적 기능에 대한 효능을 확인하기 위한 체중, 식이량, 음수량 및 식이효율의 변화는 실험군별로 경미하게 있

었으나 모든 군에서 통계적 유의성은 없었다( $p < 0.05$ ). 적출한 장기의 심장, 비장, 간, 신장(좌·우) 및 흉선 무게를 측정된 결과는 심장과 간장은 대조군에 비해 양성대조군과 실험군(E1, E2)에서 약간의 무게가 증가하였으나 통계학적 유의성은 나타나지 않았다( $p < 0.05$ ). 비장, 신장(좌·우), 흉선은 모든 군에서 경미하게 무게의 변화가 관찰되었으나 군별에서의 유의성은 없었다( $p < 0.05$ ). 비장 및 흉선의 절대무게와 상대무게에 있어서 모든 군에서 경미하게 무게의 변화가 관찰되었으나 통계학적 유의성은 인정되지 않았다.

기초대사성을 보기 위해 혈액학적 검사의 백혈구 수치변화에서는 대조군에 비하여 양성대조군에서는 통계적 유의성이 없었으며, 실험군(E1, E2)은 대조군에 비해 통계학적 유의성이 있게 나타났다( $p < 0.05$ ). 실험군 E1에서는 백혈구 중 염증관련 세포인 호중구에서 유의하게 증가하였다( $p < 0.05$ ). 단핵구, 호산구, 호염기구, 적혈구, 혈색소, 적혈구용적, 혈소판수치는 모든 실험군 간에서 통계적 유의성이 나타나지 않았다( $p < 0.05$ ).

본 연구의 결과로 보았을 때 솔잎추출물은 기초대사인 생리기능의 변화와 장기기능별에 대한 직·간접적인 영향은 미미한 것으로 판단되어지며, 이는 홍정애(2008)가 멀크 제약사에서 개발한 피나스테이드는 5 $\alpha$ -환원효소저해제로서 남성호르몬 대사에 작용하는 생리기능 효소제인 5 $\alpha$ -환원효소의 활성을 억제시켜 전립선 성장에 필요한 DHT의 생성을 억제시킴으로서 장기의 무게를 감소시킬 수 있다는 선행 연구 보고와 Stenn와 Paus(2001)의 모발 변화실험에서 혈액학적기능과 장기에는 미미한 변화를 보였다는 보고와는 상반된 결과임을 볼 때, 용량과 실험기간에 따른 변화일 것으로 사료되며 추후 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

육안적인 관찰 결과에 따라 솔잎추출물이 모낭에 미치는 영향을 확인하기 위해 피부조직 내 H&E 염색 후 모낭의 수, 모낭의 깊이 및 진피 두께를 관찰하였다. 모낭은 포유동물의 기관 중 다량의 세포재생과 분화의 유사분열이 일어나는 성장기, 기관의 기능이 급속히 퇴화하는 퇴화기와 세포분

열이 일어나지 않는 휴지기 등 순환 주기를 가지는 유일한 기관이다(Paus & Cotsarelis, 1999). 성장기에는 모유두 주변의 모기질 각질형성세포가 높은 증식활성을 보이며, 새로 형성된 모발의 착색 또한 이 기간에 이루어진다(Keith, 2002). 성장기의 가장 큰 특징은 모낭의 크기가 증가하고 모낭이 피하지방층까지 함몰되면서 진피층이 두꺼워진다(Andrzej et al., 1991). 퇴화기에는 대부분 모낭 각질형성세포의 자멸사가 일어나며, 색소생성 중단, 세포외기질의 재구성이 일어나고 모유두의 수축으로 인해 모낭이 퇴화된다(Piao et al., 2002). 수많은 성장인자와 이에 대한 수용체들은 모낭의 발달과 주기에 중요하며 모든 모낭은 전신적인 요인에 의해 조절 될 수 있는 내적 리듬을 갖고 있다(Hertog, 1993). 모발의 성장주기를 가진 모낭은 상피, 신경 및 중간엽 줄기 세포에서 상피-중간엽 상호작용에 기초해 전 생애 동안 주기적으로 재생 반복되는 피부 조직형태로 주기변화를 한다(Stenn & Paus, 2001; Paus & Cotsarelis, 1999). 모낭주기와 관련해서는 휴지기(telogen)에 위축되어 있던 모유두가 비대해지면서 상피계 세포의 증식이 일어나 큰 모근부를 형성하고 이것이 진피층으로 내려가 모발이 성장하는 것으로 추측된다(나현욱, 2005).

본 연구에서는 조직을 H&E로 염색하여 광학현미경으로 관찰한 결과는 100배율에서 육안으로 확인된 모낭의 수, 모낭 깊이, 피부 두께는 1주차에서 대조군에 비해 양성대조군, 실험군(E1, E2)에서 통계적으로 유의하게 증가하였고, 양성대조군과 실험군 비교에서도 유의성이 있었으며, 3주차에서는 대조군에 비해 양성대조군, 실험군(E1, E2) 모든 군에서 유의성 있게 나타났고, 4주차에서는 대조군에 비해 모든 군에서 증가하는 경향이 확인하여 통계적으로 유의성 있게 증가를 보였다( $p < 0.05$ ).

혈관운동 신생에 관여하는 효소로 ALP가 발모 기전에 관여하는 바는 명확하지 않지만 ALP활성도는 모발성장을 유도하는 중요한 지표로 간주되고 있다(Kevin et al., 2003). Koichi와 Kurosaka(2009)는 쥐의 모낭을 배양시

켜 모주기에 따른 ALP활성을 알아본 결과, 성장기에 높고 퇴화기에 낮게 나타났음을 보고했다. 발모와 관련된 또 다른 생화학 효소인  $\gamma$ -GT는 글루타티온의 대사와 세포막을 통한 아미노산과 펩티드 흡수, 배출에 관여하며, 성장기에 좋은 지표로 보고된 바 있다(Hamada & Suzuki, 1996). 증식과 분열이 활발한 세포에서 많이 발현되어지는  $\gamma$ -GT는 휴지기에서는 감소했다가 초기 성장기에서부터 증가하는 양상을 보이고 있다(Thomas et al., 1994).

피부조직 내 ALP의 효소 활성화 측정의 결과는 1주차에서 대조군에 비해 양성대조군에서 통계적 유의성이 나타났다. 3주차에서는 대조군에 비해 양성대조군, 실험군(E1, E2) 모든 군에서 유의성 있게 나타났다. 4주차에서는 대조군에 비해 모든 군에서 증가하는 경향을 나타내어 통계적 유의성을 보였다( $p < 0.05$ ). 본 연구에서는  $\gamma$ -GT 활성화도는 1주차에서 대조군에 비해 양성대조군에서 유의성이 나타났으며 실험군(E1, E2)에서는 유의성이 나타나지 않았다( $p < 0.05$ ). 3주차에서는 대조군에 비해 양성대조군, 실험군(E1, E2) 모든 군에서 유의성 있게 나타났으며 실험군간 비교에서는 실험군 E2에서 더 높은 활성도를 나타내었다. 4주차에서는 대조군에 비해 모든 군에서 증가하는 경향을 나타내어 통계적으로 유의성을 보였다( $p < 0.05$ ).

분자생물학적 관찰은 생물학적 유전자 발현을 분석하는데 mRNA수준에서 일반적으로 가장 널리 이용되고 있는 방법이다. 역전사 폴리메라아제 연쇄 반응(Reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)으로 특정한 염기서열에 붙는 한 쌍의 DNA primer를 사용하여 원하는 부위를 DNA 증합효소를 이용하여 증폭하는 기술로 특이성 및 효율이 향상 되어 현대 분자생물 연구에서 가장 많이 활용하는 중요한 기법이다(Siebert & Larrick, 1992). 본 연구에서 성장인자들 중 모발성장 촉진인자로 알려진 IGF-1과 VEGF 및 억제인자로 알려진 TGF- $\beta$ 1의 mRNA의 발현량을 측정하였다. 피부조직 내 IGF-1 mRNA의 성장인자 발현량은 1주차에서 대조군

에 비하여 양성대조군에서 통계적 유의성이 나타났으며 실험군(E1, E2)에서는 유의성이 나타나지 않았다( $p < 0.05$ ). 3주차에서는 대조군에 비해 양성대조군, 실험군(E1, E2)에서 유의성 있게 나타났다( $p < 0.05$ ). 4주차에서는 군별로 주차별 변화에 따른 모발성장과 함께 증가하는 경향을 보였으며, 대조군에 비해 모든 군에서 통계적으로 유의성 있게 증가하여 높은 활성을 보였다. VEGF mRNA의 발현량은 1주차에서 대조군에 비하여 양성대조군에서 유의성이 나타났으며, 3주차에서는 대조군에 비해 모든 군에서 유의성이 나타났다( $p < 0.05$ ). 4주차에서의 발현 양상은 군별 간 주차별 변화에 따른 모발성장과 함께 증가하는 경향을 보였으며, 실험군 E2 > 실험군 E1 > 양성대조군 > 대조군 순으로 높은 활성을 보였다.

이를 볼 때 성장인자들은 모낭에 공급되는 호르몬 작용에 의해 발현량이 증감 될 수도 있으며, 모유두 세포에서 분비되어 자가 분비적(autocrine), 측분비적(paracrine)방식으로 작용하고 있다. Koichi와 Kurosaka(2009)는 모유두 세포는 모발 성장주기를 유지, 재생하는데 중요한 역할을 하며, 또한 Toshihiko와 Toshio(2004)는 외모근초의 모낭 각질형성세포에 의한 VEGF 발현량의 증가에 따라 모낭의 크기 및 혈관형성이 증가되었음을 확인하였고, 피부를 포함하여 다양한 기관과 조직에서 성장, 생존과 세포의 분화를 촉진하는 펩타이드 호르몬에 관여함을 선행 연구에서 알려져 있다(Stephanie et al., 2003). 본 실험으로 볼 때 모낭의 형태 발생과 순환을 촉진한다(Ekaterina et al., 2008)는 선행연구와 모낭이 성장하는 동안 세포의 증식과 이동을 조절함으로써 모발성장을 유도한다(Nicole & Schlake, 2005)는 선행 연구와 유사한 결과로 나타났다.

또한 IGF-1과 VEGF와의 상반관계인 모발 성장 억제인자 중 하나인 TGF- $\beta$ 1은 본 실험의 TGF- $\beta$ 1 mRNA의 발현량은 1주차에서 대조군에 비하여 양성대조군, 실험군(E1, E2)에서 유의성 있게 나타났으며( $p < 0.05$ ). 3주차에서는 저해 인자 발현량이 많이 줄어들었고 대조군에 비해 모든 군에서

유의성 있게 나타났다( $p < 0.05$ ). 4주차에서의 발현량은 군별 간 1, 3주차별 변화에서 보다 많이 줄어들었으며 대조군에 비하여 양성대조군, 실험군(E1, E2) 에서도 유의성이 나타났다( $p < 0.05$ ). 양성대조군에 비해 실험군(E1, E2) 에서도 유의성 있는 변화를 확인하였다( $p < 0.05$ ). 이는 Paus 등(1997)과 Philpott 등(1994)의 연구에서 세포자연사의 유도과 각질세포 증식의 억제를 통해 모낭의 성장을 억제한다는 보고와 유사하였고, Inui 등(2002)은 모유두 세포를 이용하여 안드로겐과 DHT가 TGF- $\beta$ 1로 인해 각질세포의 성장을 억제시켜 모발성장이 억제 된다는 선행 연구와, 또한 Bustin(2000)의 연구에 mRNA의 발현량 실험에서 성장이 억제되었다는 결과와 상이하게 나타났다.

## VI. 결론 및 요약

본 연구는 솔잎추출물을 이용하여 모발 성장 촉진효과에 대해 알아보고자 생체외(in vitro)와 생체내(in vivo)실험을 통해 생리학적 변화와 기능학적 검사인 혈액학적 및 항산화 실험, 조직학적 모발형태 변화, 분자생물학적 발현량을 체계적으로 비교·분석하였다. 실험동물은 생후 5주령 된 웅성 C57BL/6 mouse를 이용하였고, 실험군은 E1 도포군(솔잎 2%), E2 도포군(솔잎 4%) 및 대조군(saline)과 양성대조군(3% MXD)으로 하여 군별 당 5마리를 이용하여 각 시료에 따라 제모한 후 등 부위에 시료를 1일 2회, 매회 120 $\mu$ l씩 주 6일, 4주 동안 경피 도포 후 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

첫째, 솔잎추출물의 전자공여능을 측정한 결과는 BHT와 솔잎추출물 모두 농도가 증가함에 따라 전자공여능이 증가하는 양-반응 관계를 나타냈다.

둘째, 적출한 피부 조직의 유해산소 대사 효소 활성 변동의 함량은 대조군에 비하여 양성대조군과 실험군(E1, E2)이 XO와 TBARS가 각각 통계적으로 유의하게 낮았고 SOD와 CAT는 대조군에 비하여 양성대조군과 실험군(E1, E2)이 유의하게 증가하였다. 이를 볼 때 솔잎추출물이 인체에 유해한 활성산소종의 방어기전으로서의 작용됨으로 육모 촉진과 탈모예방에 효과가 있는 것을 볼 수 있다.

셋째, 생리적 기능에 대한 효능을 확인하기 위한 체중, 식이량, 음수량 및

식이효율의 변화는 경미하게 관찰되었으나 모든 군에서 통계적 유의성은 없었으며, 독성실험의 안전성 지표로 장기의 심장, 비장, 간, 신장(좌·우) 및 흉선 무게를 측정된 결과는 심장, 비장, 간, 신장(좌·우) 및 흉선 무게 모두 대조군에 비해 양성대조군과 실험군(E1, E2)에서 통계학적 유의성은 나타나지 않았다. 본 연구의 결과로 술잎추출물은 장기기능별에 대한 직 · 간접적인 영향은 미미한 것으로 나타났다.

넷째, 기초대사성을 보기 위해 혈액학적 검사의 백혈구 수치변화에서는 대조군에 비하여 양성대조군에서는 통계적 유의성이 없었으나, 실험군(E1, E2)은 대조군에 비해 통계학적 유의성 있게 나타났다. 실험군 E1에서는 백혈구 중 염증관련 세포인 호중구에서 유의하게 증가하였다. 단핵구, 호산구, 호염기구, 적혈구, 혈색소, 적혈구 용적, 혈소판 수치는 모든 실험군 간에서 통계적 유의성이 나타나지 않았다.

다섯째, 피부 조직을 H&E로 염색하여 광학현미경으로 관찰한 결과 100배율에서 육안으로 확인된 모낭의 수, 모낭깊이, 피부의 두께 모두 대조군에 비해 양성대조군, 실험군(E1, E2)에서 통계적으로 유의하게 증가하는 경향이 확연하게 보였다. 이를 볼 때 술잎추출물이 모발 성장 촉진효과가 있는 것을 볼 수 있었다.

여섯째, 모발성장을 유도하는 중요한 지표로 간주되는 피부조직 내 효소 활성도를 측정하기 위해 ALP의 효소 활성도 측정 결과는 대조군에 비해 모든 군에서 증가하는 경향을 나타내어 통계적 유의성을 보였다. 증식과 분열이 활발한 세포에서 많이 발현되어지는  $\gamma$ -GT가 대조군에 비해 모든 군에서 증가하는 경향을 나타내어 통계적 유의성을 보였다.

일곱째, 피부조직 내 IGF-1 mRNA의 성장인자 발현량은 모발성장과 함께 증가하는 경향을 보였으며, 대조군에 비해 모든 군에서 통계적으로 유의성 있게 증가하여 높은 활성을 보였고, 피부조직 내 VEGF mRNA의 발현량 또한 실험군 E2> 실험군 E1> 양성대조군> 대조군 순으로 높은 활성을 보였고, 저해인자인 TGF- $\beta$ 1 mRNA의 발현량은 대조군에 비하여 양성대조군, 실험군(E1, E2)에서 많이 줄어들어 유의성이 나타났다.

위의 결과들을 종합해 볼 때 술잎추출물은 항산화능이 우수하여 모발 성장에 많은 영향을 주어 모발 성장 인자들을 활성화시킨다는 것을 알 수 있었다. 또한 모든 탈모환자에게 부작용 없이 사용 할 수 있고, 항산화 기능과 발모촉진효과 면에서도 미녹시딜과 차이 없는 것으로 보아 발모촉진제 또는 탈모예방제로의 실용가능성이 있는 것으로 사료된다.

연구의 한계점으로는 술잎추출물의 도포로 인한 모발 성장 촉진 효과를 관찰하기에는 실험 기간이 다소 짧다는 연구의 제한점이 있었으며, 본 연구 결과로 술잎추출물을 이용한 모발 성장에 대한 보다 명확한 과학적인 근거 제시를 위해 용량에 따른 효능과 안전성 평가, 다양한 기전들을 활용한 모낭주기 조절과의 상관관계에 대한 추가적인 실험이 필요하다.

## 참 고 문 헌

- 과학백과사전출판사 (1999). **약초성분과 이용**, 서울: 일월서각.
- 곽형심, 최현숙, 김순희, 전선정, 김세욱, 김태훈, 전효은 (2002). **모발·두피 관리학**, 서울: 청구문화사.
- 곽형심, 권대순, 김문주, 김순희, 김태운, 봉재환, 유유정, 이근광, 정지영, 최근희 (2005). **모발과학**, 서울: 수문사.
- 국주희, 마승진, 박근형 (1997a). 솔잎에서 향미생물 활성을 갖는 benzoic acid 의 분리 및 동정. **한국식품과학회**, 29(2), pp. 204-210.
- 국주희, 마승진, 박근형 (1997b). 솔잎에서 향미생물 활성을 갖는 Cinnamic Acid의 분리 및 동정. **한국식품과학회**, 29(4), pp. 823-826.
- 권순용 (2012). **솔잎분말을 첨가한 기능성 소시지 개발**. 석사학위논문, 경희대학교 대학원.
- 김문주, 김경순, 김세욱, 김해남, 류지원, 이수인, 이중섭, 최영순 (2003). **표준미용학**, 서울: 정담미디어.
- 김수민, 조영석, 김은주, 배만중, 한준표, 이신호, 성삼경 (1998). 단삼, 도인, 당귀미 및 솔잎의 열수추출물이 지방 산화에 미치는 영향. **한국식품영양과학회**, 27(3), pp. 399-405.
- 김은성, 김미경 (1999). 감잎, 녹차, 솔잎의 건분 및 에탄올추출물이 흰쥐의 지방대사와 항산화능에 미치는 영향. **한국영양학회**, 32(4), pp. 337-352.
- 김재호 (2000). **생화학**, 서울: 청문각.
- 김종균 (1995). 썩과 솔잎을 첨가한 절편의 영양학적 특성. **한국조리과학회**, 44(5), pp. 446-455.
- 김종대 (1991). 솔잎 첨가식이 흰쥐의 혈청 지방질대사에 미치는 영향.

한국노화학회, 1(1), pp. 47-50.

김창수 (2012). **솔잎 추출물이 피부상재균 및 진피섬유아세포에 미치는 영향**. 박사학위논문, 원광대학교 대학원.

나현욱 (2005). **상백피 추출물의 발모효과에 관한 실험적 연구**. 박사학위논문, 우석대학교 대학원.

노종희 (1993). **솔잎추출물을 첨가한 개성약과의 품질 특성**. 석사학위논문, 세종대학교 대학원.

농촌영양개선연수원: **식품성분표** (1991), 농촌진흥청.

민복기 (2006). **두피모발의 진단과 치료**, 서울: 한미의학.

민복기, 황성주, 김도원 (1997). 남성형 탈모증 환자에서 시행한 모속이식술 52예에 대한 치료효과 분석. **대한피부과학회**, 35, pp. 893- 901.

박주성 (2009). **솔잎 정유의 성분조성과 생리활성**. 박사학위논문, 충남대학교 대학원.

박종갑 (1984). **한방대의전**, 대구: 동양종합통신교육원출판부.

방찬일 (2013). **원형탈모증 동물모델 및 환자에서 308nm 엑시머레이저의 치료 효과**. 석사학위논문, 인하대학교 대학원.

송황순 (2011). **발아현미 상황버섯 균사체가 모발성장에 미치는 영향**. 박사학위논문, 건국대학교 대학원.

송효정 (1993). **알기 쉬운 가정 한방 동의보감**, 서울: 국일문화사.

안규성, 황인철 (2009). 산삼배양근을 함유한 생약추출물이 탈모방지 및 육모 촉진에 관한 실험적 연구. **한국인체예술학회**, 10(4), pp. 221-226.

안형진 (2001). **Capsaicin과 Minoxidil의 병용도포가 모발성장에 미치는 영향**. 석사학위논문, 연세대학교 대학원.

약국신문·장업신문 편집국 (2011). **탈모관리 A to Z**, 서울: 약국신문.

연광해 (2007). **검은깨와 검은 쌀, cyanidin 3-glucoside의 아나필락시**

반응과 비만세포 활성화에 대한 억제 효과. 박사학위논문, 전북대학교 대학원.

유재학 (2002). 유전성안드로젠 탈모증 모발 지표들의 시간 경과에 따른 변화, **대한피부과학회**, 40(20). p. 102.

유태중 (1992). **솔잎민간요법**, 서울: 국일미디어.

윤근영 (2009). **솔잎의 기능성과 솔잎 첨가떡의 품질 특성에 대한 연구**. 박사학위논문, 세종대학교 대학원.

임경근 (2005). **인터랙티브 헤어모드(기술매뉴얼)**, 서울: 광문각.

이범중 (2004). **천연물화학**, 서울: 자유아카데미.

이상학 (2007). **생발음 피부도포가 C57BL/6 마우스의 육모 촉진에 미치는 영향**. 박사학위논문, 경희대학교.

이윤희, 이상영, 신용목, 차상훈, 최용순 (1996). 솔잎(Pinus strobus) 추출물을 함유한 건강식품의 개발. **한국식품영양과학회**, 25(3), pp. 379-383.

이윤희, 최용순, 이상영 (1996). 닭에서 Pinus strobus 잎 추출물의 혈청콜레스테롤저하효과. **한국영양식량학회**, 25(2), pp. 188-192.

이연미 (2008). **사삼 추출물의 발모효과 연구**. 박사학위논문, 성신여자대학교 대학원.

이영래 (1998). **유기화학**, 서울: 삼광출판사.

이유신, 최지호 (1985). Epidermal growth factor가 흰 생쥐 표피 및 모발성장에 미치는 영향에 관한 연구. **대한피부과학회**, 23(6), pp. 726-735.

이창복 (1980). **대한식물도감**, 서울: 향문사.

이타미 사토시 (2010). **굿바이 탈모**, 서울: 동아일보사.

이효진, 최승필, 최형태, 김수현, 함영안, 이득식, 함승시 (2005). 솔잎 열수 증류액의 생리 활성 효과. **한국식품저장유통학회**, 12(2), pp. 179-183.

이희삼, 문재유 (2000). Cytarabine으로 유도된 탈모증에 대한 상백피 추출물의 육모촉진 효과, **대한약학회**, 44(1), pp. 66-70.

- 임성혁, 정주철, 정지훈 (2007). 오가피 추출 외용제의 발모 효과. **중양의대지**, 105, pp. 81-84
- 임은진, 김은주, 김은희, 송다해, 하성이 (2011). **두피 • 모발관리학**, 서울: 메디시언.
- 임현상, 이창균, 노병인 (1994). 안드로젠성 탈모증의 임상적 고찰, **대한피부연구학회**, 4(1), pp. 27-34.
- 임채운 (2012). **천연물의 탈모방지 및 발모효능 확인**. 석사학위논문, 서울대학교 대학원.
- 전미선, 박명자 (2010). 술잎 추출물의 성분 분석 및 염색물의 건강안전 기능성 평가. **복식문화연구학회**, 18(2), pp. 971-981.
- 정보섭 (1990). **향약생약대사전**, 서울: 영림사.
- 조명숙 (2007). **신용양진단 가미방 추출물의 모발성장 촉진 효과**. 학위논문, 계명대학교 대학원.
- 조수민, 김지현, 이민원 (2001). 탄닌화합물의 Tyrosinase 억제 활성. **생약학회**, 32(1), pp. 68-71.
- 조승연 (2010). **여성들의 탈모 요인과 인식에 관한 연구**. 석사학위논문, 동덕여자대학교 대학원.
- 정영진, 배명원, 정명일, 이지선, 정경수 (2002). 술잎 수액 증류액의 암세포주에 대한 in vitro 세포독성 **한국식품영양과학회**, 31(4), pp. 691-695.
- 정희중, 황금희, 유명자, 이순자 (1996). 송순차 제조를 위한 송순 및 술잎의 화학적 조성. **한국식생활문화학회**, 11(5), pp. 635-641.
- 최동만 (2006). 술잎발효액을 첨가한 제빵의 품질 특성. 석사학위논문, 경남대학교 대학원.
- 최병렬 (2007). **모발 성장에 영향을 미치는 천연물 검색**. 박사학위논문, 경북대학교 대학원.

- 최옥자 (1991). **약초의 성분과 이용**, 서울: 일월서각.
- 최혜연 (2009). 솔잎 쿠키의 항산화활성 및 품질특성. **한국식품영양과학회지**, 38(10), pp. 1414-1421.
- 한정선 (2013). **솔잎 발효 추출물의 피부노화억제 효능에 대한 연구**. 박사학위논문, 건국대학교 대학원.
- 한은실, 김명남, 홍창권, 노병인 (1995), 안드로젠성 탈모증의 임상적 고찰. **대한피부과학회**, 33(1), pp. 44-52.
- 한애리(2009). **생발음-II 피부도포가 C57BL/6 마우스의 육모 촉진에 미치는 효과**. 박사학위논문, 경희대학교 대학원.
- 허진주, 리 란, 유설혜, 백인정, 연정민, 남상윤, 윤영원, 황석연, 홍진태, 이범준(2005). C57BL/6 마우스에서 복합생약제인 황금궁의 육모효과. **약학회**, 49(6), pp. 518-526.
- 현지원 (2004). **남성형 탈모증의 병인 및 발생기전에 관한 고찰**. 석사학위논문, 건국대학교 대학원 .
- 홍택근, 임무현, 이준호 (2001). 솔잎의 기능성과 식품에 대한 응용. **식품과 학과산업학회**, 34(4), pp. 48-52.
- 홍정애 (2008). **익기보양탕이 C57BL/6 마우스에서 육모 촉진 및 Cytokine 변화에 미치는 영향**. 박사학위논문, 경희대학교 대학원.
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, pp. 121-126.
- Andrzej Slominski, R. Paus, R. Costantino (1991). Differential expression and activity of melanogenesis-Related Proteins During Induced Hair Growth in Mice. *The Society for Investigative Dermatology*, 96, pp.172-179.
- Ahn, S. I., Heuing, B. J. & Son, J. Y. (2007). Antioxidative activity and nitrite-scavenging abilities of some phenolic compounds. *Korean*

*Journal Food Cookery Science*, 23, pp. 19–24.

Blois, M. S. (1958). Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, pp. 1199–1200.

Bustin, S. A. (2000). Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *Journal of Molecular Endocrinology*, 25, pp. 169–193.

Clarkson, P. M., Thompson, H. S. (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health?. *American Society for Clinical Nutrition*, 72, pp. 637–646.

Danilenko, D. M., Ring, B. D., & Pierce, G. F. (1996). Growth factors and cytokines in hair follicle development and cycling: recent insights from animal models and the potentials for clinical therapy. *Molecular Medicine Today*, 2, pp. 460–467.

Ebling, F. J. G. (1986). Hair follicles and associated glands as androgen targets. *Clinical Endocrinology and Metabolism*, 15, pp. 319–339.

Esfandiari, A., Kelly, A. P. (2005). The effects of tea polyphenolic compounds on hair loss among rodents. *Journal of the National Medical Association* 97(8), pp. 1165–1169.

Hamada, K., Suzuki, K. (1996). Evaluation of biochemical indices as a hair cycle marker in C3H mice. *Experimental Animals*, 45(3), pp. 251–256.

Hertog Feskens E (1993). Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: The Zutphen elderly study. *LANCET*, 342 (8878), pp. 1007–1011.

Ihara, S., Matsuzaki, T. (2007). Hair cycle-dependent change of alkaline phosphatase activity in the mesenchyme and epithelium and mouse

vibrissal follicles. *Development, Growth and Differentiation*, 49(3), pp. 185–195.

- Inui, S., Fukuzato, Y., Nakajima, T., Yoshikawa, K., & S. Itami. (2002). Androgen-inducible TGF-beta 1 from balding dermal papilla cells inhibits epithelial cell growth: a clue to understand paradoxical effects of androgen on human hair growth. *FASEB Journal*, 16 (14), pp. 1967–1969.
- Kamimura, A., Takahashi, T. (2005). Procyanidin B-2, extracted from apples, promotes hair growth: a laboratory study. *British Journal of Dermatology*, 146, pp. 41–51.
- Kaufman, K. D., Elise, A. O., Whiting, D., Savin, R., DeVillez, R., Bergfeld, W., Vera H. Price, Dominique Van Neste, Janet L. Roberts, Maria Hordinsky, Jerry Shapiro, Bruce Binkowitzb, & Glenn J. Gormley (1998). Finasteride in the treatment of men with androgenetic alopecia. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 39(4), pp. 578–589.
- Kaufman, K. D. (2002). Androgens and alopecia. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 198, pp. 89–95.
- Kevin, J. McElwee, S. Kissling, Wenzel, E., Huth, A., & Hoffmann, R. (2003). Cultured peribulbar dermal sheath cells can induce hair follicle development and contribute to the dermal sheath and dermal papilla. *The Society for Investigative Dermatology*, 212(6), pp. 1267–1275.
- Libecco, J. F., Bergfeld, W. F (2004). Finasteride in the treatment of alopecia. *Expert Opin Pharmacother*, 5, pp. 933–40.
- Marian Valko, Mario Izakovic, Milan Mazur, Christopher J. Rhodes,

- & Joshua Telser (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 266, pp. 37–56.
- Martin JP Jr, Dailey M, Sugarman E (1987). Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autoxidation. *Arch Biochem Biophys*, 255(2), pp. 329–336.
- Messenger, A. G. (1993). The control of hair growth:An overview. *The Society for Investigative Dermatology*, 101, pp. 4–9.
- Nguyen, M. T., Awale, S., Tezuk, Y., Tran, Q. L., Watanabe, H., & S. Kadota (2004). Xanthine oxidase inhibitory activity of Vietnamese medicinal plants. *Pharmaceutical Society of Japan*, 27(9), pp. 1414–1421.
- Nicole Weger, Schlake, T. (2005). IGF-1 signalling controls the hair growth cycle and the differentiation of hair shafts. *The Society for Investigative Dermatology*, 12(5), pp. 873–882.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 95, pp. 351–358.
- Ozeki, M., Tabata, Y. (2003). In vivo promoted growth of mic hair follicles by the controlled release of growth factors. *Biomaterials*, 24, pp. 2387–2394.
- Paus, R., Foitzik, K., & Eichmuller, S. (1997). Transforming growth factor-beta receptor type I and type II expression during murine hair follicle development and cycling. *The Society for Investigative Dermatology*, 109, pp. 518–526.
- Paus, R., Cotsarelis, G. (1999). The biology of hair follicles. *The*

*New England Journal of Medicine*, 341(7), pp. 491-497.

- Philpott, M. P., Sanders, D. A., & Kealey, T. (1994). Effects of insulin and insulin-like growth factors on cultured human hairfollicle: IGF-1 at physiologic concentrations is an important regulator of hair follicle. *The Journal of Investigative Dermatology*, 102, pp. 857-861.
- Piao, Y. J., E. Y. Seo, & J. S. Kim. (2002). The influence of testosterone propionate on the expression of several growth factors in human scalp dermal papilla cell. *Journal of Investigative Dermatology* 9: 29-34
- Siebert, P. D., Larrick, J. W. (1992). Competitive PCR. *Nature*, 359, pp. 557-558.
- Stenn, K. S., N. J. Combates, K. J. Eilertsen, J. S. Gordon, J. R. Pardinas, & Parimoo, S. (1996). Hair follicle growth controls. *Dermatology Clinics*, 14, pp. 543-558.
- Stenn, K. S., Paus, R. (2001). Controls of hair follicle cycling. *Physiological Reviews*, 81, pp. 449-494.
- Stephanie R. Edmondson, Susan P. Thumiger, George A. Werther & Christopher J. Wraight (2003). Epidermal homeostasis : The role of the growth hormone and insulin-like growth factor systems. *Endocrine Reviews*, 24, pp. 737-764.
- Stirpe, F., Della C. E., & Lorenzoni, E. (1969). The Regulation of Rat Liver Xanthine Oxidase: conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (tape D) to oxidase(tape O). *The Journal of Biological Chemistry*, 244(14), pp. 3855-3863.
- Srividya, A. R., Dhanabal, S. P., Misra, V. K., & Suja, G. (2010).

Antioxidant and antimicrobial activity of alpinia officinarum.  
*Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 72(1), pp. 145-148.

Thomas T. Kawabe, Marc F. Kubicek, G. A. Johnson, & A. E. Buhl  
(1994). Use of gamma-Glutamyl Transpeptidase Activity as a  
Marker of Hair cycle and Anagen Induction in Mouse Hair  
follicles. *The Society for Investigative Dermatology*, 103(1), pp.  
122-126.

Toshihiko Hibino, Toshio, N. (2004). *Role of TGF- $\beta$ 2 in the human hair  
cycle*. *Journal of Dermatological Science*, 35, pp. 9-18.

Whiting, D. A. (2004). *The Structure of the Human Hair Follicle. Light  
Microscopy of Vertical and Horizontal Sections of Scalp Biopsies.*  
*Pfizer, Canfield Publishing*.

Yamauchi, K., Kurosaka, Akira. (2009). Inhibition of glycogen synthase  
kinase-3 enhances the expression of alkaline phosphatase and  
insulin-like growth factor-1 in human primary dermal papilla cell  
culture and maintains mouse hair bulbs in organ culture. *Arch of  
Dermatol Res*, 301, pp. 357-365.

Zagana P, Haikou M, Klepetsanis P, Giannopoulou E, Ioannou PV, &  
Antimisiaris SG. (2008). In vivo distribution of arsonoliposomes:  
Effect of vesicle lipid composition. *International Journal of  
Pharmaceutics*, 347, pp. 86-92.

국민건강보험 (2011, 03. 28). “탈모” 질환 20~30대 젊은 층 진료 많이 받  
는다. 자료검색일 2013, 7. 30, 자료출처 <http://www.nhis.or.kr/>

의협신문 (2011, 10. 25). 전국의 모발이식전문가 한 자리에 모인다. 자료검  
색일 2013, 7. 30, 자료출처 <http://www.doctorsnews.co.kr/>

약업신문 (2012, 09. 19). 젊은 탈모 환자 급증 . . . 약 46%가 20~30대.

자료검색일 2013, 7. 30, 자료출처 <http://www.yakup.com/>

건강보험심사평가원 보도자료 (2012, 09. 20). 머리카락 “송송” 빠지는

탈모증, 젊은 환자가 많다. 자료검색일 2013, 7. 30, 자료출처 [http: //](http://)

<http://www.hira.or.kr/main.do>

# ABSTRACT

## A study on the hair growth promoting effect of pine-needle extract

Shin, bu-seop  
Dept, of Clothing  
Graduate School  
Sungshin Women's University

In this study, to identify the effects of pine-needle extracts on hair growth, in vitro and in vivo experiment were conducted systematically to compare and analyze physiological changes, histological changes of hair types, and molecular-biological expression level.

5-week-old male C57BL / 6 mice were used as the experimental animals, and the experimental subjects were divided into 4 groups including E1(2% pine-needles), E2(4% pine-needles), control(saline), and positive control (3% MXD). By using 5 mice per group, after removing body hair, 120  $\mu\text{l}$  of specimens were percutaneously daubed onto the back of experimental animals twice a day, six days a week for a month. The results were as follows.

First, a positive response relationship was found that as the density

of both dibutylated hydroxytoluene(BHT) and pine-needle extracts increased, the electron donating ability also increased.

Second, as for the content of harmful oxygen metabolic enzyme activity changes in extracted skin tissues, the positive control and the experimental groups (E1, E2) were significantly lower on XO and TBARS compared to the control group( $p<0.05$ ). In terms of SOD and CAT, the positive control group and the experimental groups (E1, E2) were significantly increased compared to the control group( $p<0.05$ ). From the results, pine-needle extracts works as the defense mechanisms to harmful oxygen of the body, so that pine-needle extracts will be effective in the prevention of hair loss and promoting hair-growth.

Third, changes in body weight, diet amount, drinking amount, and diet efficiency were slight, but there was no statistical significance in all of the groups. As an indicator of stability in toxicity test, the weight of organs such as heart, spleen, liver, kidneys (left and right), and thymus were measured and the results showed that the weight of the extracted internal organs was not statistically significant ( $p<0.05$ ). Therefore, direct and indirect effects of kudzu leaf extracts on the organs seem insignificant.

Fourth, the hematological test conducted to know basic metabolism of the organs showed that white corpuscle count changes did not have a statistical significance in the positive control group compared to the control group, while there was statistical significance in the experimental groups (E1, E2) compared to the control group ( $p<0.05$ ). In group E1, neutrophils related to inflammation among leukocytes significantly increased( $p<0.05$ ), but there was no statistical significance in the counts of monocyte, eosinophil, basophil, red corpuscle, hemoglobin, red corpuscle volume, and platelet of all the experimental groups.

Fifth, Skin tissues were observed by using an optical microscope after

dyeing with H&E. At a magnifying power of 100, the hair follicle counts, hair follicle depth, and inner skin thickness all significantly increased statistically in the positive control group and the experimental groups (E1, E2) compared to the control group. Therefore, pine-needle extracts seems to be effective in promoting hair-growth.

Sixth, the enzyme activity of ALP within skin tissues, regarded as an important indicator of hair growth induction, showed statistical increase significantly in all groups compared to the control group ( $p < 0.05$ ). There was significant increase in relation to the  $\gamma$ -GT activity, which is highly expressed in proliferation and division of cells, in all the groups compared to the control group ( $p < 0.05$ ).

Seventh, The growth factor expression level of IGF-1 mRNA within skin tissues had statistical significance to the hair growth and showed high activity in all groups compared to the control group. The expression level of VEGF mRNA within skin tissues showed the highest in experimental group E2, and experimental group E1, the positive control group, and the control group were as followed. The expression level of impeding factor TGF- $\beta$ 1 mRNA within skin tissues was significant in the positive control group, experimental group E1, and experimental group E2 compared to the control group ( $p < 0.05$ ).