

장경화의 석사학위논문을 인준함

위원장 조선대학교 교수 이 병 래



위 원 조선대학교 교수 이 중 현



위 원 조선대학교 교수 류 은 미



2018년 6월

조선대학교 산업기술융합대학원

탄닌이 2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB) 피부염 생쥐의 모발성장에 미치는 영향

지도교수 류 은 미

이 논문을 미용향장학 석사학위신청 논문으로 제출함

2018년 4월

조선대학교 산업기술융합대학원

미용향장학과

장 경 화

탄닌이 2,4-dinitrochloroben- zene(DNCB) 피부염 생쥐의 모발성장에 미치는 영향

The effect of tannin on hair growth in
2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB)-dermatitis
mice

2018년 8월

조선대학교 산업기술융합대학원

미용향장학과

장 경 화

2018년 8월
석사학위논문

탄닌이 2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB) 피부염 생쥐의 모발성장에 미치는 영향

조선대학교 산업기술융합대학원

미용향장학과

장 경 화

목 차

LIST OF TABLES	IV
LIST OF FIGURES	V
ABSTRACT	VI

I. 서 론

1. 연구배경	1
2. 연구동향	3
3. 연구목적 및 내용	8

II. 연구이론

1. 모발	
1.1 모발	10
1.2 모발의 형성	11
1.3 모발의 구조	11
1.4 모발의 주기 및 기능	12
1.5 모발의 종류 및 형태	13
2. 두피	14
2.1 두피	14

2.2 두피의 구조 및 기능	14
2.3 두피의 유형	17
3. 탈모	19
3.1 탈모	19
3.2 탈모의 원인	19
3.3 탈모의 종류 및 형태	20
3.4 탈모의 예방 및 치료	22
4. 발모	25
4.1 발모	25
5. 피부염	26
5.1 피부염	26
5.2 DNCB(2,4-dinitrochlorobenzene)	26
6. 멜라닌	29
6.1 멜라닌	29
7. 탄닌	32
7.1 탄닌	32
7.2 탄닌의 유용성분	35
7.3 문헌적 고찰	35

Ⅲ. 실험재료 및 방법

1. 실험재료	37
1.1 실험재료	37
1.2 실험동물	37
2. 실험방법	38

2.1 용어 정리	38
2.2 피부염 유발 과정	38
2.3 육안적 관찰(외형효과)	40
2.4 조직학적 분석(Hematoxylin & Eosin)	40
2.5 피부 조직 전사체(Transcriptome) 분석	40

IV. 실험 결과 및 고찰

1. 탄닌 투여가 피부염 생쥐의 피부 증상에 미치는 영향	45
2. 탄닌 투여가 피부염 생쥐의 피부조직 소견에 미치는 영향	50
3. DNCB 피부염 생쥐의 모발 주기 관련 유전자의 발현 변화	52
4. DNCB 피부염 생쥐의 멜라닌 생합성 관련 유전자의 발현 변화	57
5. 탄닌이 DNCB 피부염 생쥐의 모발 주기 관련 유전자의 발현 변화	60
6. 탄닌이 DNCB 피부염 생쥐의 멜라닌 생합성 관련 유전자의 발현 변화	63

V. 결론 및 제언

참 고 문 헌

감사의 글

In conclusion, tannin helps to improve symptoms of contact dermatitis, and changes in hair-related gene expression may help to improve the cycle or growth impediment of hair caused by dermatitis.

weeks showed dermatitis symptoms such as skin rash, papule, eczema and scab formation, but significantly reduced over the DNCB-DM group. There was no change in skin symptoms in the control group, O,A group.

Secondly, histological analysis of H&E staining showed clearly the boundary between the epidermal layer and the dermal layer, the border of the hair follicle, and the hair follicle cells in the DNCB-DM+T group than in the DNCB-DM group.

Third, the gene related to the hair cycle through transcript analysis of total RNA is as follows. In the DNCB-DM group, the mRNA amount of G protein-coupled receptor(Gprc5d), msh homeobox 2(Msx2), patched 2(Ptch2), wingless-type MMTV integration site family(Wnt10b), desmoglein4(Dsg4), keratin associated protein 4-16(Krtap4-16), homeobox C13(Hoxc13), adenomatosis polyposis coli down-regulated 1(Apcdd1) and SRY(sex determining region Y)-box 21(Sox21) were decreased compared with the those of control group.

Fourth, the expression of melanin biosynthesis-related genes in the DNCB-DM group was decreased in mRNA amount of tyrosinase (Tyr), oculocutaneous albinism II (Oca2), tyrosinase-related protein 1 (Tyrp1) and dopachrome tautomerase(Dct), in contrast, it was increased in the DNCB-DM+T group than in the control group.

Fifth, gene expression profiles of DNCB-DM+T group by analyzing transcripts of isolated total RNA were analyzed and mRNA levels of G protein-coupled receptor(Gprc5d), desmoglein 4(Dsg4), keratin associated protein 4-16(Krtap4-16), patched 2(Ptch2), homeobox C13(Hoxc13), forkhead box Q1(Foxq1), forkhead box N1(Foxn1), and adenomatosis polyposis coli down-regulated1(Apcdd1) were increased compared to the DNCB-DM group.

ABSTRACT

The effect of tannin on hair growth in 2,4-Dinitrochlorobenzene(DNCB)-dermatitis mice.

Kyoung-Hwa Jang

Advisor : Eun-Mi Ryu, Ph.D

Dept. of Beauty and Cosmetic

Graduate School of Chosun University

Appearance is being perceived as competitive by not only women but also men, so hair and scalp are exposed to chemicals such as frequent dyeing and bleaching and permanent for enhancing appearance. Those reasons cause problematic scalp disease or dermatitis on the scalp and hair growth impediment. The purpose of this study was to investigate the effects of tannin, which has antimicrobial and immunological properties, on hair growth in contact dermatitis induced by 2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB). Twenty male 5 week old balb/c mice adapted for one week at Samtako were examined for a total of 8 weeks.

First, mice(DNCB-DM) were exposed to dermatitis, and tannin aqueous solution (0.2w/v in 200ml of tap water) was orally taken to dermatitis induced mice(DNCB-DM+T). The results were as follows: First, skin symptoms of mice in the DNCB-DM+T group treated for 3 weeks and 5

LIST OF FIGURES

Fig. 1. Schematic diagram of the study.	9
Fig. 2. Structure scalp.	16
Fig. 3. Scalp type.	18
Fig. 4. Hamilton-Norwood Classification system, Ludwig patten.	24
Fig. 5. Chemical formula of 2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB).	28
Fig. 6. Melanine Biosynthesis procedure.	30
Fig. 7. Melanosome.	31
Fig. 8. Chemical formula of tannic acid.	34
Fig. 9. Diagram of experimental procedure.	42
Fig. 10. Tools and Parameters.	43
Fig. 11. Transcriptomes Analysis flow.	44
Fig. 12. First experiment(0~3weeks).	47
Fig. 13. Second experiment(4~8weeks).	48
Fig. 14. dermatitis induced(21day); dermatitis induced with tannin(56day).	49
Fig. 15. Histological features of the skin in the dinitrochlorobenzene(DNCB)- treated Balb/c mice at 8weeks after the start of DNCB administration.	51

LIST OF TABLES

Table 1. Experimental design	39
Table 2. Alterations of hair cycle related genes in skin of DNCB-dermatitic mice by RNA-seq analysis	56
Table 3. Alterations of melanin biosynthetic process related genes in skin of DNCB-dermatitic mice by RNA-seq analysis	59
Table 4. Select skin transcripts related to hair cycle in tannin treated DNCB-dermatitic mice by RNA-seq analysis	62
Table 5. Select skin transcripts related to melanin biosynthetic process in tannin treated DNCB-dermatitic mice by RNA-seq analysis	64

I. 서 론

1. 연구배경

산업의 발달로 인공화학 합성물의 범람과 환경오염이 가속화되면서 각종 면역과민성 질환을 유발하는 알레르겐이 급증하는 추세이며, 특히 피부 질환 중에서 접촉성 피부염이 가장 많이 나타난다⁽¹⁾. 접촉성 피부염이란 외부 물질과의 접촉에 의하여 발생하는 피부염을 말하며, 이는 습진성 피부 질환의 일종으로 간주된다. 여기에는 원발성(자극성) 접촉피부염(irritant contact dermatitis, ICD)과 알레르기성 접촉피부염(allergic contact dermatitis, ACD)의 형태가 있다⁽²⁾. 원발성(자극성) 접촉피부염은 일정한 세기 이상의 자극을 주면 거의 모든 사람에게 일어날 수 있으며, 화학 물질에 의한 화상, 주부습진, 기저귀 피부염 등이 속한다⁽³⁾. 알레르기성 접촉피부염은 개체가 이미 항원에 감작된 후 다시 항원과 접촉 시 수 시간에서 72시간 사이에 염증반응이 시작되는 지연형 과민 반응이다⁽⁴⁾. 정상인에게는 피부병이 발생하지 않으나 원인 물질에 감작된 사람에게만 증상이 유발되는 독특한 특이성을 나타낸다⁽⁵⁾. 알레르기성 접촉피부염을 일으키는 알레르겐은 화학물질⁽⁶⁾, 약물 및 기타 자극물질로⁽⁷⁾, 인체에 유해한 중금속 중에는 니켈, 코발트, 크롬 등이 있으며, 이들은 수포, 습진, 다형 홍반, 육아종, 구진, 소양증 등을 동반한다⁽⁸⁾. 최근에는 두피와 모발에 지나친 시술을 하고 각종 스트레스 및 환경오염 등에 노출되어 두피의 기능과 모발에 많은 손상이 가해지고 있다⁽⁹⁾. 모발염색, 퍼머넌트 웨이브, 모발세척에 사용되는 화학물질의 화학성분들이 두피와 모발에 남아 탈모 및 문제성 피부질환을 일으켜 악영향을 미치는 것이다⁽¹⁰⁾. 접촉성 피부염의 주요한 증상으로는 국소부위의 발진, 물집 또는 가려움과 작열감을 보이며, 그 과정에서 염증성 사이토카인

(cytokine) 및 케모카인(chemokine)의 발현과 같은 선천성 면역반응을 동반한다고 알려져 있다⁽¹¹⁾. 접촉성 피부염의 진단은 환자의 병력, 병변의 위치, 발진의 경과 등을 관찰하여 원인 물질을 추정할 수 있으나, 원인의 규명은 첩포 검사가 가장 우수한 진단 방법으로 알려져 있다⁽¹²⁾. 접촉성 피부염의 치료로는 부신피질호르몬, 항히스타민제, 항생제와 스테로이드제 등을 광범위하게 사용하고 있다⁽¹³⁾. 하지만 이러한 약물요법은 면역반응을 정상적으로 회복시키기보다는 증상을 완화하는데 그치고 있으며, 항염증 제를 장기복용 할 경우 면역저하, 성장지연, 골다공증 등의 부작용이 생길 수 있다⁽¹⁴⁾. 그러므로 스테로이드의 사용을 줄이거나, 대체하고자 하는 연구가 시도되고 있으며⁽¹⁵⁾, 천연 물질에 대한 연구도 활발히 진행되고 있다. 천연 물질은 화학 물질이 갖는 위험성이나 사용에 있어서의 제한 등을 감안해 볼 때 매우 안정적이며 환경과 인체의 유독성이 화학물질에 비해 낮기 때문이다⁽¹⁶⁾. 탄닌(tannin)은 식물성 식품과 사료에 존재하는 폴리페놀 화합물이다⁽¹⁷⁾. 알칼로이드나 단백질을 침전시키는 고분자 물질로서 식품에 존재할 때 떫은맛이 있고 과일의 표피나 종피 등에 널리 분포하고 있다⁽¹⁸⁾. 최근에는 탄닌류의 항균, 항산화, 항종양 작용 및 중금속 제거능과 같은 생리 활성이 보고되어 주목받고 있다⁽¹⁹⁾. 특히, (-)-epigallocatechin-3-gallate(EGCG)는 관상동맥질환, 암과 같은 현대인들의 치명적인 질병 발생을 예방하는데 큰 효과가 있다고 보고되고 있으며⁽²⁰⁾, 식물의 잎이나 뿌리로부터 추출한 탄닌산(tannic acid) 및 갈로탄닌(gallotannin)은 가려움증 유발 효소 단백질과의 결합 또는 흡착에 의해 효소 단백질을 응고, 불용화할 수 있는 특성이 있어 가려움증의 완화 및 진정에 도움을 줄 것이라고⁽²¹⁾하였다. 따라서 본 연구에서는 탄닌이 2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB)에 인위적으로 유발시킨 접촉성 피부염 증상에서 모발성장에 어떠한 영향을 미치는지 알아보려고 하였다.

2. 연구동향

일상에서 화장품 및 약물 사용이 증가하면서 현대 인구는 이전보다 훨씬 다양한 물질에 노출되게 되었다. 이로 인해 접촉피부염의 빈도도 증가하고 피부과 외래에 내원하는 환자들 중에서도 접촉피부염이 많은 비중을 차지하게 되었다⁽²²⁾. 접촉피부염은 화학물질, 약물, 식물 및 기타 자극물에 의한 피부의 알레르기성 반응으로 유발되는 것이다⁽²³⁾. 알레르기성 접촉피부염은 T세포와 대식세포가 관여하는 세포매개성 면역반응으로 T세포의 활성을 통해 다양한 cytokine이 분비되어 항원 유입부위로 염증 세포의 유주로 염증이 발생한다⁽²⁴⁾. 증상으로 소양감, 홍반, 부종, 물집 등을 보이며 면역기전의 관여 유무에 따라 알레르기성과 자극성으로 분류된다⁽²⁵⁾. 알레르기성 접촉피부염은 감작기(afferent phase, sensitization)와 유발기(efferent phase, challenge)로 나누며⁽²⁶⁾ 알레르기성 접촉피부염은 옷나무나 금속에 의한 접촉 화장품과 바르는 의약품 등으로 유발되며⁽²⁷⁾ 알레르기 접촉피부염의 원인 물질은 보통 ‘알레르겐 또는 항원’이라 부르며 이는 정상인에게는 피부병을 일으키지 않으나, 이 물질에 민감화된 사람에게는 피부염을 일으키는 물질을 말한다⁽²⁸⁾. 아토피 피부염(atopic dermatitis, AD)은 피부의 만성적인 염증성 질환으로 가려움, 홍반, 피부균열, 염증 진행과 더불어 가피형성 등의 증상을 동반하여 장기간에 걸쳐 회복과 재발생이 반복되는 만성-소모성 질환으로⁽²⁹⁾ 현재 꾸준히 증가하는 추세이다⁽³⁰⁾. 아토피 피부염은 지속적으로 재발하는 특징을 가지고 있어서⁽³¹⁾ 평생 관리가 필요한 알레르기 질환으로⁽³²⁾ 사회와 개인의 경제적 부담을 증가 시키며, 심한 경우 삶의 질을 저하시키고, 천식, 비염과 같은 다른 알레르기 질환으로도 진행될 수 있는 것처럼⁽³³⁾ 단순한 피부 질환이 아니다⁽³⁴⁾. 아토피 피부염의 발병 증가는⁽³⁵⁾ 산업화, 도시화의 심화로 변화된 주거 환경, 식생활의 변화, 유전적인

영향, 환경오염에 의해 발생하는 화학적, 생물학적 유해인자들에 대한 노출에 의해 다양한 연령층에서의 발생이 크게 증가하고 있다⁽³⁶⁾. 유전적 요인, 면역학적 요인, 환경적 요인을 주요 발병원인으로 들 수 있으며, 이들이 하나 이상의 복합작용으로 발병하는 것으로 알려져 있다⁽³⁷⁾. 특히 유전을 가장 큰 요인으로 보지만 알레르기의 유전성을 발현시키는 원인은 환경오염과 음식이다. 체내에 유해 중금속이 쌓일시 필수 무기질 대사에 문제가 생겨 체내 무기질의 불균형이 되어 아토피가 발생하는 원인이 될 수 있다⁽³⁸⁾. 면역학적 요인에서는 급성기에는 주로 Th2 사이토카인(IL-4, IL-5, IL-13 등)이 염증반응에 관여하는 반면 만성기로 접어들면서 Th1 사이토카인(IFN- γ , IL-12 등)에 의해서 염증반응이 지속되는 것이다⁽³⁹⁾. 아토피 환자의 경우 호염기구와 비만세포의 막 표면에 결합되어 나타나는 IgE가 항원 항체 반응으로 히스타민을 생산하고 Th2와 관련된 IgE, IL-4, IL-13등의 사이토카인이 증가하는 경향을 보인다⁽⁴⁰⁾. 현재 사용되는 치료법으로는 회피 요법, 목욕 요법, 식이 요법 등의 자가 요법과 자외선 치료, 탈감작 요법, 중합가시광선 요법 등을 이용한 치료와⁽⁴¹⁾ 외용제의 도포 방법, 탕약 또는 환약 복용을 한 면역 조절 작용⁽⁴²⁾과 한약 복용, 온천 및 건강보조식품, 침 요법, 아로마 이용, 화장품 사용, 생활환경 개선, 식습관 개선, 주사 요법 등이 있다⁽⁴³⁾. 하지만 아토피 피부염의 빠른 증상 개선을 목적으로 항히스타민제와 스테로이드제를 위주로 사용하고 있으며, 장기간 사용 시⁽⁴⁴⁾ 피부의 위축이나 소아 환자에서 성장 지연의 가능성 등 각종 부작용이 문제되고 있다. 따라서 부작용이 적은 천연물을 이용한 아토피의 치료제의 개발에 관심이 많아지고 있는 추세이며⁽⁴⁵⁾. 최근 천연물을 이용한 국내 아토피 피부염 관련 연구 중 생약 조성물(미치광이풀, 작약, 줄풀 등), 홍삼, 밤, 구기자, 장수 상항 버섯, 미황(고체 발효 추출물), 상엽 등이 IgE의 수치를 낮추고 아토피 증상을 호전시키고 염증 반응에 효과가 있다고 보고하였다⁽⁴⁶⁾. 이와 관련된 선행 연구 논문으로 이주현⁽⁴⁷⁾은 두피의 염증 및 비듬치료 목적으로 두피관리에 천연 허브 성분 사용이 증가하고 있다고 보고하였다. 양영단⁽⁴⁸⁾은 현대에 들어 화학 염료를 이

용한 염색으로 환경오염, 아토피성 피부염이나 알레르기 등 여러 가지 문제점들이 보고되었다며 천연 물질인 벚나무 열매를 열수 추출한 염료로 모발에 염색을 실시하였다. 김옥경⁽⁴⁹⁾은 완전한 아토피 피부염을 치료하기 위해서 한방에서는 피부의 증상 개선과 오장장부의 균형을 맞춰 노폐물 제거와 기혈의 흐름을 순조롭게 하여 건강 유지할 수 있도록 체질개선요법도 함께 하고 있다고 보고하였다. 차유림⁽⁵⁰⁾은 편백나무 추출물은 아토피, 알레르기 등 각종 피부염의 원인이 되는 집 먼지 진드기의 생육 억제에 탁월한 효과가 있다고 보고하였다. 알레르기 질환은 일단 발생하면 형태를 달리하거나 증상의 악화와 호전을 반복하며 진행될 가능성이 높기 때문에 예방이 더욱 필요한 질환이라고 할 수 있다⁽⁵¹⁾. 따라서 질병과 치료 교육, 지속적인 관리방법, 심리적 지지, 적절한 식이요법과 대체요법에 대한 요구도가 가장 높아 이에 대한 적절한 교육이 있어야 한다⁽⁵²⁾.

탈모는 모발의 성장주기가 정상적이지 않고, 비정상적으로 모발이 이상 탈락되는 현상을 의미한다⁽⁵³⁾. 영양불균형, 호르몬 분비 이상, 스트레스, 두피 혈액순환 장애의 증가로 인해 두피·모발관련 질환 인구가 증가하고 있고⁽⁵⁴⁾, 중요한 질환의 하나로 분류하고 있다⁽⁵⁵⁾. 정신적 스트레스, 유전적 인자, 국소감염, 내분비 장애, 신경병변, 혈관장애 등이 제시되고 있으며 이중 가장 빈번하게 언급되는 것 중 하나는 스트레스와 호르몬과의 관계이다⁽⁵⁶⁾. 탈모를 유발하는 원인은 아직 정확히 밝혀지지 않는 않지만 바이러스 감염, 외상, 나병이나 독발성 모낭염 등의 세균감염, 혈관 운동 불안정성, 유전적 소인, 내분비 이상, 정신적 자극, 아토피 및 지루성 피부염 등이 관여될 것으로 보고 있다⁽⁵⁷⁾. 최근 아토피성 피부염에 의한 탈모 현상이 점차 증가 추세에 있으며, 염증에 의한 탈모증은 원형탈모증과도 조금은 비슷하나 탈모된 부위의 경계가 분명하지 않다⁽⁵⁸⁾. 현재 모발성장을 촉진하는 약물은 미녹시딜과 피나스테라이드 등이 있다. 장기간 사용할 경우 두피의 가려움증, 홍반, 표피 벗겨짐과 건성화를 동반한 피부염과 알레르기성 접촉성 피부염 및 지루성 피부염을 일으킬 수 있다고 보고되었다⁽⁵⁹⁾.

이에 따라 상대적으로 부작용이 덜한 천연물의 효과에 대한 관심이 늘어나는 추세이며⁽⁶⁰⁾, 이와 관련된 선행 연구 논문으로는 크게 5가지로 나눌 수 있다. 이 중에 첫 번째 두피관련으로는 검은콩, 작약 녹차 추출물⁽⁶¹⁾, 동백 추출물⁽⁶²⁾, 오만둥이⁽⁶³⁾, 해삼 추출물⁽⁶⁴⁾, 두 번째 탈모관련으로는 고려 홍삼⁽⁶⁵⁾, 고삼, 세신, 백자인, 골쇄보⁽⁶⁶⁾, 로즈마리 오일⁽⁶⁷⁾, 산사 추출물⁽⁶⁸⁾, 산삼 배양근⁽⁶⁹⁾, 쑥⁽⁷⁰⁾, 황칠 나무⁽⁷¹⁾, 효모성분추출물⁽⁷²⁾, epigallocatechin-3-gallate(EGCG)⁽⁷³⁾, 세번째 발모관련으로는 양파 추출물⁽⁷⁴⁾, 반하 추출물⁽⁷⁵⁾, 꽃송이 버섯 추출물⁽⁷⁶⁾, 밀싹 추출물⁽⁷⁷⁾, 네 번째 모발성장 관련으로는 고삼, 인삼 및 단삼 혼합물⁽⁷⁸⁾, 곰 기름⁽⁷⁹⁾, 콩(대두)⁽⁸⁰⁾, 대추 및 발효대추 추출물⁽⁸¹⁾, 배암차즈기 추출물⁽⁸²⁾, 삼황사심탕(대황, 황련, 황금)⁽⁸³⁾, 송지 추출물⁽⁸⁴⁾, 영지 추출물⁽⁸⁵⁾, 우엉뿌리와 황칠나무잎 발효액⁽⁸⁶⁾, 다섯 번째 육모 및 양모 관련으로는 검은콩, 측백엽, 아마씨 추출물⁽⁸⁷⁾, 복합 천연물 에탄올 추출물⁽⁸⁸⁾, 생발음-II⁽⁸⁹⁾, 익기보혈탕⁽⁹⁰⁾, 측백잎 추출물⁽⁹¹⁾, 하수오 열수추출물⁽⁹²⁾, 황칠나무 잎 메탄올-초음파 추출물⁽⁹³⁾, 경옥고가미방 추출물⁽⁹⁴⁾, 생약 추출 복합물(한련초, 상백피, 측백엽, 곡결)⁽⁹⁵⁾, 홍삼 가수분해 추출물(GS-E3D)⁽⁹⁶⁾, 홍삼 사포닌 Rg3⁽⁹⁷⁾이 있다. 탈모를 방지하고 모발의 성장을 촉진시킬 수 있는 새로운 치료방법의 모색과 개발은 매우 중요하다⁽⁹⁸⁾. 발모와 양모는 양의학은 물론 한의학에서도 완전히 해결하지 못한 오래된 연구과제로 아직 특효약이나 방제가 개발되지 않은 상태이다. 그런 이유로 수많은 요법과 방제가 난무하고 있는 것이 현실이다⁽⁹⁹⁾.

두피(scalp)는 해부학적으로 전면의 얼굴과 후면과 측면의 목과 경계되는 모발로 덮여있는 특수화된 조직으로⁽¹⁰⁰⁾, 인종이나 기후에 따라 두께가 달라진다⁽¹⁰¹⁾. 두피는 세포 분열에 의해 일정하게 각화 과정을 거쳐 크게 표피, 진피, 피하조직의 3개의 층으로 구성되어 있다⁽¹⁰²⁾. 인체의 두피에는 한선과 피지선이 널리 분포되어 있어 다양한 미생물이 부착, 서식, 오염할 수 있는 조건을 갖추고 있다. 땀과 피지 그리고 체온에 의한 열은 두피 내의 미생물 생장에 필요한 영양물질과 환경조건을 형성한다⁽¹⁰³⁾. 그 중 비듬균은 기후나 땀, 음식의 환경적 요

인과 스트레스 등의 생리적 요인에 의해 과다하게 증식하며 비듬을 발생시키고 심하면 염증을 일으키거나 이로 인한 탈모증을 유발시키는 요인이 되기도 한다⁽¹⁰⁴⁾. 최근 탈모와 두피건강 악화로 고민하는 인구가 크게 늘고 있다⁽¹⁰⁵⁾. 웰빙(well-being)의 붐과 함께 헤어스타일에만 편식되었던 사람들의 관심이 두피의 손상을 최대한 억제하고 건강함을 살리려는 방향으로 전환이 되었다⁽¹⁰⁶⁾.

3. 연구 목적 및 내용

본 연구에서는 탄닌이 모발성장에 어떠한 영향을 미치는지 알아보고자 동물 실험을 통해 1차 실험과 2차 실험으로 나누어 아래와 같이 진행하였으며 실험의 모식도는 Fig. 1과 같다.

실험 내용은 다음과 같이 5단계로 구분 하였다.

첫 번째, 탄닌에 관한 선행 문헌을 통해 탄닌의 유효성분 및 약리 작용에 대해 조사하였다.

두 번째, 동물실험은 크게 두 단계로 진행되었으며, 먼저 1차 실험으로는 2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB)을 이용해 생쥐의 경피 부위에 접촉성 피부염을 유발 시켰다.

세 번째, 1차 실험에서 접촉성 피부염이 진행된 상태의 생쥐의 경피 부분에 2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB)을 이용해 피부염을 일으키면서 탄닌 0.2(W/V)을 수돗물에 희석시켜 투여 하였다.

네 번째, 실험 시작 56일째에 생쥐를 경추 도살 시킨 후 경피 조직은 hematoxylin & eosin과 RNA 분석을 위해 두 가지로 분류하였다. 적출된 경피 조직은 hematoxylin & eosin 염색법을 통해 광학현미경으로 조직학적 분석을 하였다.

다섯 번째 RNA를 분석을 위해 적출된 경피 조직을 통해 모발성장 관련 유전자의 변이를 확인하였다.



Fig. 1. Schematic diagram of the study.

II. 연구이론

1. 모 발

1.1 모발

모발은 사람의 털을 총칭하는 말로서⁽¹⁰⁷⁾, 모낭으로부터 자라 단단하게 밀착되어 각질화 된 상피 표피로 이루어진 고품의 원추 섬유(cylindrica fiber) 구조물이다⁽¹⁰⁸⁾. 모세혈관으로부터 혈액 공급을 통해 영양분을 공급받아 세포분열 하여 모공을 통해 외부로 나와 있는 가느다란 경단백질을 일컬으며⁽¹⁰⁹⁾, 스스로 재생이 불가능한 구조를 가지고 있다⁽¹¹⁰⁾. 사람의 전신에는 130~140만개의 털이 있는데 이 중 머리에는 약 10만개의 모발이 존재 하고 있다⁽¹¹¹⁾. 모발의 수는 모발의 차이에 따라 금발의 경우에는 약 14만개 이상이며, 흑발의 경우에는 약 10만개 정도이다⁽¹¹²⁾. 탄소, 산소, 수소, 질소, 황 등으로 이루어졌고 구성물질의 약 90% 이상이 케라틴 단백질이며 멜라닌 색소, 수분, 미량 원소들로 구성되어 있다⁽¹¹³⁾. 모발의 색은 멜라닌 과립의 크기와 양에 따라 색이 결정되는데, 이러한 멜라닌 과립은 척추동물의 피부와 모발에 존재하는 중요한 색소로서 자외선에 의해서 유도된 활성산소를 제거하는 역할을 한다⁽¹¹⁴⁾. 피부의 부속관으로 피부 조직의 표피 중에서 발생하여 손바닥, 발바닥, 입술 등 일부를 제외한 전신에 분포하고 있다⁽¹¹⁵⁾. 보온, 지각, 감각작용 및 중금속 등의 유해인자를 모발이 길어져 나올 때 체외로 배출시키며⁽¹¹⁶⁾, 촉각, 통각을 전달하며 신체를 외부의 물리적 화학적 자극으로부터 보호한다⁽¹¹⁷⁾.

1.2 모발의 형성

모발은 모낭이라 불리는 주머니에 둘러싸여 있으며 모낭에 있는 모기질세포(모모세포)로부터 만들어진⁽¹¹⁸⁾. 태아의 모발은 발생 시기에 따라 다른 형태로 존재하는데, 임신 16주에서 20주 사이에 태아의 전신에 분포하는 취모는 처음 생성되는 털로 가늘고 수질이 없으며 멜라닌 과립도 존재하지 않는다⁽¹¹⁹⁾. 태아는 모태에서 태생 4~5개월까지 전신에 발모가 되는데, 제일 먼저 안면에서 나오는 털을 연모(솜털)라고 한다.

1.3 모발의 구조

모발의 구조는 모근부와 모간부로 이루어져있다. 모근부는 피부 안에 있는 부분으로⁽¹²⁰⁾, 모모세포가 증식·분열하면서 만들어진 모발 중 모낭에 싸여 있는 부분이다⁽¹²¹⁾. 모낭(hair follicle)은 표피에서 시작, 표피층을 지나 진피에 형태를 갖춘 양과 모양의 둥근 모구로⁽¹²²⁾, 상피와 중간엽 세포로 구성 되어 있으며 이들의 상호작용은 모낭의 형태 발생과 성장에 중요한 역할을 한다⁽¹²³⁾. 기모근은 털을 세우고 소름을 돋게 만든다. 피지선은 피지를 분비하여 윤기를 줌으로서 모발과 두피를 보호하는 역할을 하고⁽¹²⁴⁾, 모구(hair bulb)는 피지를 분비하여 두피와 모발에 윤기와 부드러움을 주고 표면을 보호해 준다⁽¹²⁵⁾. 모유두(hair papilla)는 모낭하부에 위치하며⁽¹²⁶⁾, 혈관에서 영양소를 공급받아 모모 세포와 색소 세포와 함께 세포분열을 통해 모발을 성장하게 한다⁽¹²⁷⁾. 모모 세포는(hair mother cell) 새로운 모발 세포를 만드는 작용을 한다⁽¹²⁸⁾. 내·외근모근초(inner, outer root sheath)는 모근을 감싸고 있는 모낭과 모표피층 사이에 존재하는 세포층으로 다시 외측으로부터 헨레(henle)층, 헉슬리(huxley)층, 초소피층으로 구분된다. 모발이 피부 밖으로 나오게 되면 이들 세포층도 비듬이 되어 소멸된다⁽¹²⁹⁾. 외모근초는 모구 부위에서 세포분열하여 피부표면 방향으로 이동하여 모구 상부 부위에 이르면 다시 한 번 세포분열 하여 갑자기 두꺼워지며, 외모근초 세포는 피부표면 방향과 모간 방향으로 이동하여 분화가 시작된다⁽¹³⁰⁾. 피지

선은 문제성 두피의 발생이나 남성형 혹은 지루성 탈모증과 깊은 관계가 있으며, 스트레스 등의 내적자극에 영향을 많이 받는다⁽¹³¹⁾. 입모근(arrector pili)은 일종의 근육으로서 스스로는 움직일 수 없지만, 차가움이나 공포에 순간적으로 수축되어 피부표면에 소름을 일으키고, 털을 세우고 피지를 분비하게 된다⁽¹³²⁾. 모발의 구조에서 모간부는 두피 바깥으로 나와 있는 부분으로, 모발이 모낭에서 벗어난 부분이다⁽¹³³⁾. 모간은 모발이라고도 하는데, 신경이 없고 세포분열이나 각화과정이 이미 끝난 케라틴 단백질로 구성되어 있다⁽¹³⁴⁾. 모표피는 모발 내부를 보호하는 역할을 하며, 얇은 케라틴 단백질로 비늘 모양을 하고 있으며, 모발에 윤기와 광택을 준다⁽¹³⁵⁾. 모피질은 모발의 약 90% 정도를 차지하고 있으며, 피질은 모발의 강도, 유연성, 탄성, 색, 모발의 모양 등을 결정지어 준다⁽¹³⁶⁾. 모수질은 벌집모양으로 구형세포로 되어있으며, 모발을 강하게 한다⁽¹³⁷⁾.

1.4 모발의 주기 및 기능

모발의 성장은 모낭의 상피세포(epithelial cell)와 진피세포(epidermal cell)의 복합적인 상호작용으로 이루어지며, 그것의 상호작용에 따라⁽¹³⁸⁾ 성장기(anagen), 퇴행기(catagen), 휴지기(telogen)로 나누어지는데⁽¹³⁹⁾, 성장기의 모발 수명은 3~6년 정도이며, 전체 모발의 약 88%를 차지하고, 퇴행기는 1~1.5주 정도로 전체 모발의 약 1%를 차지한다. 휴지기는 모발의 성장이 멈추는 시기로 기간은 4~5개월 정도로 전체 모발의 약 11%를 차지한다⁽¹⁴⁰⁾. 정상인의 경우 전체 머리카락의 약 90%는 성장기에 있으며 나머지 약 10%는 휴지기에 속한다고 볼 수 있다⁽¹⁴¹⁾. 휴지기의 마지막이 되면 새로운 모발이 생성되는 발생기가 시작된다. 모발의 각 성장주기에 있어서 다양한 인자들이 작용함으로써 양모 또는 탈모를 유발하게 된다⁽¹⁴²⁾. 한의학에서는 모발 탈락의 원인으로 혈이 허하여 피부를 영양 하지 못하고 과로로 인한 심비의 영양을 받지 못하거나 기름진 음식 등의 과식으로 인한 습열의 훈증 등이 있다고 한다⁽¹⁴³⁾. 모발의 성장 속도는 하루에 0.35mm, 한달에 1~1.5cm가 자라며 환경요인에 의해서 달라질

수 있다. 모발의 굵기에 따라, 경모는 굵은 모발로 0.1m이고, 보통 모발은 0.075~0.085mm이며 연모는 가는 모발로써 0.06mm이다⁽¹⁴⁴⁾. 모발은 건강상태의 척도로서⁽¹⁴⁵⁾, 인체 내부의 수은, 비소, 납 등의 중금속을 배출하는 기능⁽¹⁴⁶⁾, 자외선 차단, 완충 작용 등과 같이 두피를 보호하는 기능 이외에 사람의 인상과 외모를 결정짓는 미용학적인 측면에서⁽¹⁴⁷⁾ 다양한 방법으로 모발에 변화를 주어 신분을 표시하거나 자신의 미적 표현을 하고 있다⁽¹⁴⁸⁾. 모발은 뇌와 그것을 둘러싸고 있는 두개골 보호와 같은 본래의 기능 이 외에도 발모, 양모 및 탈모 예방은 예로부터 많은 관심의 대상이 되고 있다⁽¹⁴⁹⁾.

1.5 모발의 종류 및 형태

모발의 종류는 굵기에 따라 취모, 연모, 경모로 구분 할 수 있는데 취모는 배냇머리라 불리는 솜털로 모발 중에 가장 가늘고 연한 것이며, 연모는 모수질이 없고 부드러우며, 멜라닌 색소가 적은 갈색의 색상을 띄고 있다⁽¹⁵⁰⁾. 보통의 경모는 평균 4~6년의 성장 기간과 약1m 정도의 길이를 갖는다⁽¹⁵¹⁾. 모발형태에 따라서는 직모(straight), 반곱슬모(Wavy), 곱슬하게 지저진모(Frizzy), 비틀린 흑인모(Kinky), 양모(woolly), 나선형모(Helical)등으로 분류하였다⁽¹⁵²⁾.

2. 두 피

2.1 두피

두피(頭皮, Scalp)의 사전적인 의미는 ‘두개를 덮는 부분’이다⁽¹⁵³⁾. 인체를 덮고 있는 피부 조직은 각 부위에 따라 얼굴, 손등, 손바닥 등과 같이 다양한 명칭으로 구분되어지며⁽¹⁵⁴⁾, 인체의 가장 큰 조직인 피부 중 모발이 자라나는 부위를 뜻하기도 한다⁽¹⁵⁵⁾. 두부를 보호하고 있는 부분의 피부 조직으로 모근부와 한선(소한선)이 발달되어있다⁽¹⁵⁶⁾. 대략 수분 70%, 단백질 27%, 지방 2.5% 무기질(미네랄) 0.5% 정도로 이루어져 있으며 모체 내에서 뇌와 함께 형성된다⁽¹⁵⁷⁾. 두피는 모낭과 혈관이 밀집되어 있고 신경분포도 매우 조밀하여 두피의 건강상태에 따라 모발도 민감하게 작용한다⁽¹⁵⁸⁾.

2.2 두피의 구조 및 기능

두피의 구조는 Fig. 2와 같이 피부와 동일하게 가장 바깥층인 표피, 중간층인 진피, 가장 내부 층인 피하지방으로 형성된다⁽¹⁵⁹⁾. 표피는 육안으로 보이는 피부의 가장 윗부분을 형성하고 있으며 0.03~1mm 두께의 얇은 조직으로 외부의 충격이나 흡수를 막아주고 몸을 보호하는 기능을 가지며⁽¹⁶⁰⁾, 각질층, 투명층, 과립층, 유구층, 기저층의 5층으로 이루어져 있다⁽¹⁶¹⁾. 기저세포가 세포분열 과정을 걸쳐 위로 밀어 올라가면 유구 세포에서의 합성과정, 과립층에서 분해 과정을 거쳐서 각질층으로 이동되어 비듬이 되어 떨어질 때까지의 각화 과정을 반복한다⁽¹⁶²⁾. 진피는 표피층 바로 아래 위치하며 중배엽에서 기원한 결체 조직이다. 표피보다 20~40배가량 두터우며 두께는 약2~3mm로서 실질적인 피부이고 피부조직 외에 부속 기관으로 혈관, 림프선, 한선, 피지선, 모발과 입모근을 포함하고 있다⁽¹⁶³⁾. 피하지방은 진피 밑에 위치하고 그 구조상 지방(fat) 분자 또는 지질(lipid) 분자가 들어 있는 지방 조직층으로 두께가 개개인의 연령, 성

별, 건강상태에 따라 다르며 외부의 충격에 대한 쿠션 역할을 한다⁽¹⁶⁴⁾. 두피의 기능 중에서 보호기능은 인체 내 피부조직으로 하나의 커다란 장벽이며, 물리적, 화학적 자극 및 태양광선과 세균으로부터 인체 내부 장기를 보호한다⁽¹⁶⁵⁾. 흡수기능은 모발성장 및 두피의 영양에 필요한 영양분을 외부로부터 흡수한다⁽¹⁶⁶⁾. 호흡기능은 인체 호흡의 97% 중 약 1~3% 정도에 해당되며, 두피의 이산화탄소 및 이물질이나 독소를 배출하여 신선한 산소를 흡수하여 혈액을 맑게 해주는 등 피부 신진대사 기능에 있어 중요한 역할을 한다⁽¹⁶⁷⁾. 배설 및 분비 피지를 분비하여 두피와 모발을 윤택하게하고 수분 증발을 막아 세균의 감염을 막아준다⁽¹⁶⁸⁾. 체온조절 기능은 피부조직의 모세혈관이 피부 발한 작용을 통하여 체온을 일정하게 유지한다⁽¹⁶⁹⁾. 감각 기능은 두피에 자극을 주면 두피가 민감해져 모세혈관이 확장되어 약한 자극에도 따갑거나 간지럽거나 하게 된다⁽¹⁷⁰⁾. 비타민D 합성의 기능은 햇빛을 받으면 유기체에 필요한 영양소 비타민D가 저절로 생성된다⁽¹⁷¹⁾.

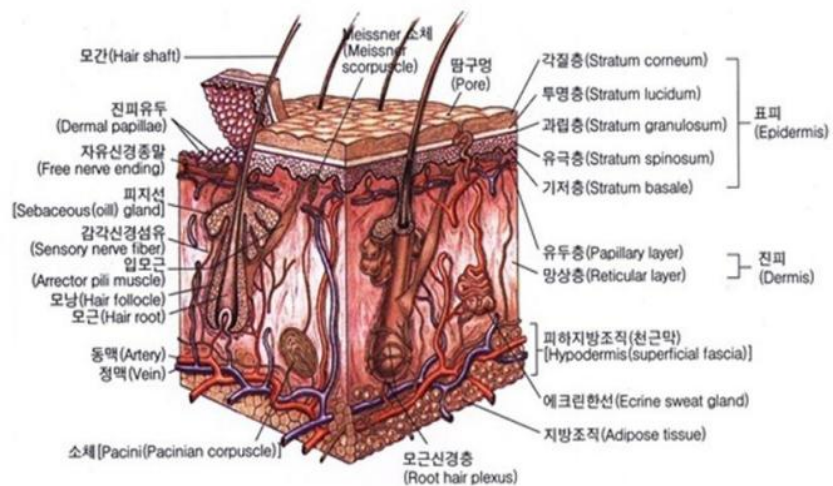


Fig. 2. 두피 구조⁽⁷⁷⁾.

2.3 두피의 유형

두피는 정상두피, 건성 두피, 지성 두피, 지루성 두피, 비듬성 두피, 복합성 두피 등으로 구분할 수 있다. 정상 두피 A는 두피 표면이 맑은 청백색을 띄면서 투명도가 높으며, 두피에 각질이 없고 깨끗하며 모발 주위의 모공이 완전히 열려 있는 상태를 관찰 할 수 있다⁽¹⁷²⁾. 건성 두피 B는 두피의 피지 분비량이 적어 건조하며 윤기가 없다. 모공부위에는 노화된 각질이 쌓여 있으며 두피가 탁하고 불규칙하게 갈라져 있다⁽¹⁷³⁾. 지성 두피 C는 모공을 각질과 피지, 응고물들이 막고 있어 세균 번식에 좋은 환경을 제공하고 악취를 동반하기도 한다⁽¹⁷⁴⁾. 지루성 두피 D는 피지 분비가 과도하여 비듬과 각질이 피지와 엉겨있어 모공을 막고 있으며 피지 산화물로 인하여 불쾌한 냄새가 나며, 모공과 모근 주위에 세균이나 곰팡이 균의 번식으로 염증이 나타나기 쉬우며 홍반이나 소양감 등을 나타낸다⁽¹⁷⁵⁾. 비듬성 두피 E는 두피의 표피가 각질화 한 것으로 묵은 세포가 두피로부터 떨어져 나오지 못하고 쌓여있는 형태를 말한다⁽¹⁷⁶⁾. 복합성 두피 F는 두피 상태가 혼합된 유형으로 산화된 피지가 모공을 막아 각질이 생겨서 모공을 덮어 모발의 성장 장애를 초래하기도 한다⁽¹⁷⁷⁾. 탈모진행형 두피는 피지분비가 과다하고, 두피가 경직되어 단단하고 비듬과 가려움증 동반으로 이 증세는 갈수록 악화된다⁽¹⁷⁸⁾(Fig. 3).

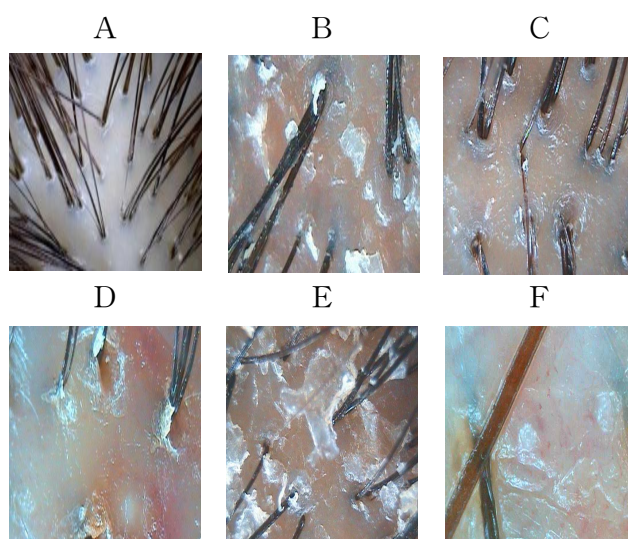


Fig. 3. 두피의 유형 ^{(179), (180)}.

3. 탈 모

3.1 탈모

우리 몸엔 약 10만개의 모발이 있는데 정상적으로 있어야 할 부분에 모발이 결여되거나 그 수가 감소하여 생기게 된 상태를 탈모라 한다⁽¹⁸¹⁾. 하나의 모공에 2~3개의 모발이 존재해야 정상이지만 탈모가 있는 두피는 하나의 모공에 한 개의 모발이 존재하거나 빈 모공으로 함몰 상태로 되어있다⁽¹⁸²⁾. 탈모는 두피로부터 모발이 단순히 탈락되는 것만을 의미하는 것이 아니며, 인체의 밸런스가 깨지면서 모발의 굵기가 가늘어지고 성장주기가 짧아지며 두피에 존재하는 기간이 많이 단축되는 것을 뜻한다⁽¹⁸³⁾.

3.2 탈모의 원인

탈모의 원인은 아직 명확히 밝혀지지 않았지만 유전적인 요인과 남성호르몬, 불규칙한 생활습관, 잦은 염·탈색 및 스트레스 등으로 알려져 있다⁽¹⁸⁴⁾. 유전적 요인으로는 탈모를 일으키는 유전자가 한 쌍의 성염색체(XX, XY)를 제외한 22쌍의 성염색체성 유전이 되는 것으로 알려져 있으며, 부모 중 모(母)쪽의 유전자가 더 중요한 의미를 가진다⁽¹⁸⁵⁾. 탈모를 일으키는 유전자는 우성이므로 한 쌍의 유전자 중 한 개만 가져도 발현 가능하다⁽¹⁸⁶⁾. 호르몬 요인으로는 탈모의 발현 유무는 남성호르몬에 의해 결정된다 할 수 있으며, 남성 호르몬은 탈모의 발현에 중요한 역할을 하고 있다⁽¹⁸⁷⁾. 스트레스 요인으로는 복잡한 현대의 과중한 업무 스트레스와 심리적 원인으로 정신노동자에게 더 많이 발생되며 선진국이 탈모수가 많고 젊은 사람들에게서도 많이 증가 하는 추세라고 한다⁽¹⁸⁸⁾. 노화 요인으로는 모발의 성장주기 변화에서부터 시작되는 것으로 성장기의 기간이 점차적으로 짧아지는 형태를 보이며, 모낭의 위축 현상이 나타나 가는 연모

가 생성되는 것으로 흔히 노인들에게서 많이 나타난다⁽¹⁸⁹⁾. 영양불균형의 요인으로서는 모발은 영양불균형 상태가 되면 모유두까지 영양분이 충분히 공급되지 않아 모발의 성장이 지연되고 가늘어지면서 결국 탈모로 이어지게 된다⁽¹⁹⁰⁾. 또한, 모낭이나 피부에 기생하는 모낭충은 탈모의 또 다른 원인으로 알려지고 있으며, 모낭충은 리파아제를 분비하여 피지와 모근의 지질 성분을 분해시켜 영양분을 사용함으로 모근에 손상을 주며 분비물과 사체로 피지 속으로 전이시켜 염증을 유발시키며, 모근을 갉아먹으며 탈모를 가속화 시키는 한편 면역기능을 약화 시킨다⁽¹⁹¹⁾. 면역력이 저하된 두피는 모낭충이 감염되면 퇴치하지 못하고 모공에서 서식하게 하며, 모낭충은 모낭과 피지선을 파괴 국소적 이물반응을 나타내며 탈모 진행을 촉진 한다⁽¹⁹²⁾. 모낭염 발생은 모낭안에 기생하는 모낭충에 의한 요인과 피부상처를 통하여 황색포도상구균과 연쇄상구균이 감염되어 발생하는 세균성 모낭염으로 나눌 수 있다⁽¹⁹³⁾. 이에 따른 염증반응은 상처와 외부 이물질의 침입 시 생체를 방어하기 위해 가장 먼저 일어나는 선천성 면역(inate immunity)반응이다⁽¹⁹⁴⁾. 곰팡이, 세균, 바이러스, 모낭충 등에 의한 감염성 탈모는 감염균의 종류와 발병 기간에 따라 두피에 염증이거나 비듬의 문제가 생기며, 발생 범위나 부위에 따라 모발이 탈락하는 증상이 다르다⁽¹⁹⁵⁾. 모유두 조직이 화상이나 외상으로 손상된 경우, 염·탈색제 사용으로 인한 염증⁽¹⁹⁶⁾도 있다. 이는 미용시술을 받는 현대인들에게 증가되고 있으며, 각종 환경오염 물질 또한 원인⁽¹⁹⁷⁾이 된다.

3.3 탈모의 종류 및 형태

성장주기에 따라 휴지기성 탈모와 성장기성 탈모로 구분하며, 휴지기성 탈모로는 안드로겐에 의한 남성형 탈모, 여성의 산후 탈모, 내분비 질환에 의한 탈모가 있다. 성장기성 탈모는 원형 탈모, 비반흔성 탈모 등이 있다⁽¹⁹⁸⁾.

가. 남성형 탈모증

안드로겐성 탈모증은 전두부(앞머리)에서 두정부(정수리)까지의 정상적 굵은 머리카락 대신 가늘고 탈색된 솜털을 볼 수 있다⁽¹⁹⁹⁾. Fig. 4. A와 같이 앞이마(M자)나 정수리 부위(O자)에 광범위한 탈모가 일어나는 유형으로 모발이 가늘어지면서 안면과 두피의 경계선이 뒤로 물러나고 두상 중앙의 굵은 머리가 빠지는 현상으로 나타난다⁽²⁰⁰⁾.

나. 여성형 탈모증

Ludwig에 의한 3단계의 분류법이 주로 사용되는데, Fig. 4. B와 같이 1단계는 전두부에서 1cm 뒤부터 인지할 수 있을 정도의 두정부 모발의 감소를 보이는 시기, 2단계는 두정부 모발이 두드러지게 감소한 시기, 3단계는 모발이 완전히 탈락된 시기로 구분된다⁽²⁰¹⁾.

다. 원형 탈모증

원형탈모는 한 곳 또는 여러 곳에 다양한 크기의 원형을 나타내며 전체 두피로 확산되기도 한다⁽²⁰²⁾. 넓은 연령층에서 유발되며 여성에게 더 빈번하게 나타나는 것으로 알려져 있다⁽²⁰³⁾.

라. 휴지기성 탈모증

휴지기성 탈모는 성장기 모낭이 너무 빠르게 휴지기로 전환 될 때 발생하며⁽²⁰⁴⁾, 스트레스, 출산, 고열, 독감, 대수술, 만성질환, 영양장애 및 감염으로 일어나는 탈모증이다⁽²⁰⁵⁾.

마. 외상성 탈모증

머리를 잡아당기거나 땅을 경우, 아이론이나 롤러 등으로 과도한 열을 가했을 경우, 강력한 화학약품에 의해 손상을 받았을 경우(탈색, 염색, 펌)에 일어나며, 흔하지는 않지만 발모벽이 있는 사람들은 탈모 부위가 발생할 수 있다⁽²⁰⁶⁾.

바. 지루성 탈모증

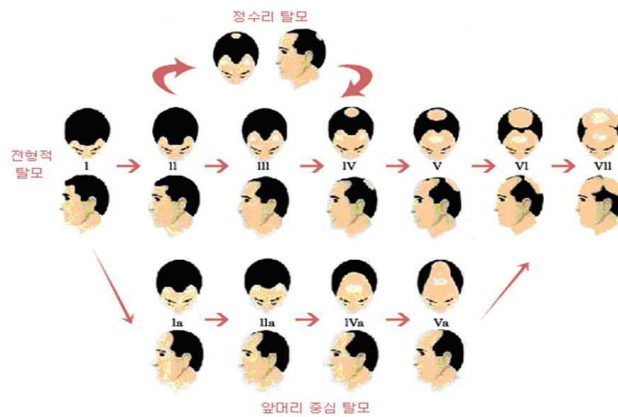
피지의 과다분비, 곰팡이 균 감염, 과한 다이어트, 약물 부작용, 알콜, 면역력 저하 등이 원인이 되며 비듬, 피지 증가, 미생물 번식으로 간지러움 증과 같은 통증을 유발한다⁽²⁰⁷⁾.

3.4 탈모의 예방 및 치료

탈모의 예방으로의 두피 스케일링은 미세먼지 등의 환경적 요인과 두피의 노폐물, 각질 및 산화 물질을 제거하여, 문제성 두피와 탈모를 예방하고 건강한 두피 상태를 유도하는 두피 관리 중의 일환이다⁽²⁰⁸⁾. 병원 치료로의 자가 모발 이식은 탈모 환자의 후기 치료에 널리 사용되며 빠른 치료 효과를 보기를 원하면 피나스테라이드와 병해 하여 시술하기도 한다. 펀치법과 미니 그래프트법, 마이크로 그래프트법, 단일 이식모 등이 있다⁽²⁰⁹⁾. 고주파 기기법으로는 10kHz 이상의 고주파를 이용하여 탈모 방지 등 많은 부분에 이용하고 있으며⁽²¹⁰⁾, 피부 혈행 개선과 모낭층 제거의 효과가 있다⁽²¹¹⁾. 약물 치료로는 현재 모발성장을 촉진하는 약물로 미국 식품의약국(FDA)에서 공인 받은 미녹시딜과 피나스테라이드가 있다⁽²¹²⁾. 미녹시딜의 모발성장에 대한 작용기전은 말초혈관에 작용하여 피부에 국소적 혈류증가를 유발함으로써 모발의 성장을 촉진, 퇴행기를 짧게, 성장기를 오래 지속시키고, 칼륨채널열림효과(postassium channel opener)로 작용해 모낭을 활성화시키는 것으로 알려져 있다⁽²¹³⁾. 피나스테라이드는 5 α -reductase의 활성을 억제시킴으로써 탈모의 진행 지연 및 발모 효과를 지니지만, 효과 유지를 위한 장기 복용은 남성 성기능 장애, 여성 기형아 출산과 같은 부작용을 초래하기도 한다⁽²¹⁴⁾. 남성호르몬인 테스토스테론(testosterone)은 모포에서 5 α -reductase에 의해 보다 생물 활성이 높은 5 α -dihydrotestosterone(DHT)로 변하는데, 이것의 작용이 탈모를 유발하는 주 원인으로 알려져 있다⁽²¹⁵⁾. 5 α -reductase는 DHT에 유전적 소인이 있는 사람의 두피에서 남성형 탈모증이 발생하는데⁽²¹⁶⁾, 남성형 탈모의 유전적 소인을 가진

사람에서는 남성호르몬이 탈모 유발 주원인인 DHT를 억제하여 새로 만들어지는 모발의 굵기가 가늘어지고, 모주기도 점점 짧아지게 되는 것이다⁽²¹⁷⁾. 여성들은 남성들에 비해서 5 α -reductase를 절반가량 밖에 가지고 있지 않으며 아로마타아제(aromatase)가 DHT의 생성을 억제하기 때문에 여성의 탈모 유형은 남성과는 확연히 다르게 나타나게 된다⁽²¹⁸⁾.

A



B



Fig. 4. Hamilton-Norwood Classification system; A⁽¹⁹³⁾, Ludwig pattern; B⁽²¹⁹⁾.

4. 발 모

4.1 발모

발모란 사전적 의미로 몸에 털, 특히 머리털이 나는 것을 말한다⁽²²⁰⁾. 사람의 모발은 뇌와 그것을 둘러싸고 있는 두개골 보호와 같은 본래의 기능 이외에도 미용적인 면에서 큰 기능을 하고 있다⁽²²¹⁾. 모발성장과 관련된 생화학적 효소인 GTP는 막 결합성 효소로 특히 γ -GT는 증식과 분열이 활발한 세포내에서 많이 발현 되고 휴지기 단계에 접어들면 감소했다가 성장기 단계에 들어가면 증가하는 것으로 밝혀져 있다⁽²²²⁾. KGF는 발모와 관련된 인자로 섬유아세포 성장 인자 family의 member로서 모발성장을 자극한다. VEGF는 휴지기에 신생 혈관 생성을 촉진시키고, 새로운 모발의 성장기로 유도하는 것으로 알려져 있다⁽²²³⁾. 하지만 발모 작용 기전은 명확하지는 않고, 영양공급을 증가시키기 위해 혈관을 확장하거나 칼륨 통로를 여는 등의 효과가 모발성장을 유도하는 것으로 생각되고 있다⁽²²⁴⁾. 지금까지 개발된 발모제나 양모제들은 대부분 혈액 순환 부진이나 영양 장애, 지루성 피부염 등 탈모를 유발하는 간접적인 원인들을 개선함으로써 발모를 유도하는 것이다⁽²²⁵⁾. 이에 따라 발모 촉진을 위한 여러 약제들과 생약 추출물이 개발되고 있으며, 최근에는 식품 및 천연 식물자원으로부터 치료제를 찾으려는 연구가 계속되고 있다⁽²²⁶⁾. 천연물 소재에 대한 관심이 고조됨에 따라 국내 탈모방지 및 발모 관련 특허의 내용을 살펴보면 출원 특허의 62%가 천연물을 소재로 하고 있다⁽²²⁷⁾. 해조류, 천연 생약제 및 식품 재료들의 추출물을 첨가한 발모제가 모발 재생, 탈모 방지, 모근의 강화에 효과가 있다는 것을 확인 하였다고 하였으며⁽²²⁸⁾, 한약재 배합물인 신옹양진단, 사물탕가미방 및 당귀보혈탕가미방을 경구 투여하거나 고삼과 골쇄보 추출물 등을 피부에 도포한 실험들의 발모 효과에 대한 연구가 보고 되었다. 천연물을 이용하여 발모에 관련된 선행 연구 논문으로는 녹용⁽²²⁹⁾, 아벨모⁽²³⁰⁾, 반모와 골쇄보⁽²³¹⁾, 아로

마오일 도포법⁽²³²⁾, 녹차⁽²³³⁾ 등이 있다.

5. 피부염

5.1 피부염

접촉성 피부염은 인체 외부의 여러 환경인자나 화학 물질과의 접촉에 의해 발생하는 모든 피부염을 말하며, 피부 장벽이 기능을 제대로 하지 못하여 발생하는 알레르기 질환 중 하나이다⁽²³⁴⁾. 알레르기성 접촉성 피부염은 항원에 감작된 사람에게 항원이 재차 피부에 침투하면 접촉된 부위에 발적, 구진, 소수포, 소양 등의 염증반응을 일으키는⁽²³⁵⁾, 제 IV형 지연형 과민반응에 속하는 면역 질환이다⁽²³⁶⁾. 한국인에게 흔하게 발생하는 알레르기성 접촉성 피부염은 시계나 장신구에 의한 금속 알레르기성 접촉성 피부염과 각종 향수나 화장품과 관련된 것이 대표적이다⁽²³⁷⁾. 치료로는 스테로이드제, 항히스타민제가 주로 사용되며 그 외에 기타 회피요법, 광선치료, 면역조절제, 장벽크림, 탈감작요법 등이 활용되고 있다⁽²³⁸⁾. 다만, 스테로이드의 사용은 소아, 임신, 수유부는 주의해야 하며 1~3주 이상 사용 시 복용 중단 후 최고 1년까지 뇌화수체-부신피질의 억제 나타날 수 있고 고혈압, 고혈당, 체중증가, 수면장애 등 부작용이 나타날 수 있으므로 주의해야 한다⁽²³⁹⁾. 그러므로 천연물로부터 새로운 물질을 개발하려는 연구가 지속적으로 진행되고 있다⁽²⁴⁰⁾.

5.2 DNCB(2,4-dinitrochlorobenzene)

접촉성 피부염 유발 물질로⁽²⁴¹⁾, hapten을 형성하여 마우스에게 사람의 아토피 피부염과 유사한 면역학적 특징을 유도한다. 동물 모델에서 피부 병변의 발생률과 재현성이 뛰어나며 단기간에 유발시킨다⁽²⁴²⁾. 과민한 세포성 면역반응을 일으켜 피부손상 즉, 홍반, 해면화, 상피세포 과형성, 비만세포와 T림프구의 증

가 등을 일으킨다⁽²⁴³⁾. 피부조직을 관찰했을 때 과각화증과 염증세포의 침윤 등이 관찰되고, 면역 관여 세포들의 복합 작용에 의해 급격한 염증반응이 일어나는 것으로 알려져 있다⁽²⁴⁴⁾. 나이트로벤젠(Nitrobenzol)의 불순물로 피부에 흡수되기 쉬우며, 휘발성이 있는 액체로 산업현장에서 먹, 마크, 잉크 등 얼룩을 지우고, 구두약 또는 염료 제조 시 용매로 사용되는 유기화합물이기도 하다⁽²⁴⁵⁾(Fig. 5).

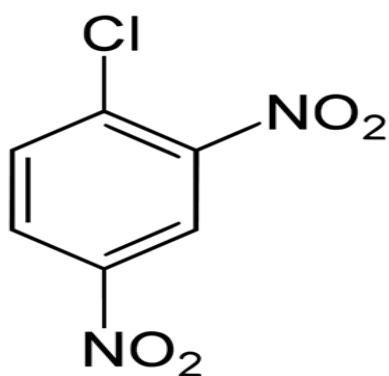


Fig. 5. Chemical formula of
2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB).

6. 멜라닌

6.1 멜라닌

멜라닌은 생체의 필터와 같은 역할로서 자외선을 흡수·산란시켜 피부조직이 자외선에 의해 손상되는 것을 막아주며, 자외선 및 멜라닌세포 자극 호르몬(melanocyte stimulating hormone; MSH)등에 의해 생성이 촉진된다⁽²⁴⁶⁾. 멜라닌의 생합성은 아미노산의 일종인 티로신(tyrosin)을 전구 물질하여, tyrosin→DPPA→DOPA→quinone→indole-5,6dihydroquinone으로 변화하고, indole-5,6-dihydroquinone의 중합체가 멜라닌⁽²⁴⁷⁾이다.(Fig. 6). 생성된 멜라닌은 멜라닌세포의 수지상돌기에 의해 멜라닌솜이라는 소포체 형태로 주변의 각질형성세포로 전달이 되어 표피에 골고루 퍼지게 된다⁽²⁴⁸⁾(Fig. 7) 멜라닌은 크게 유멜라닌과 페오멜라닌이란 두 가지 유형으로 구분할 수 있다. 유멜라닌은 가장 어두운 색소로 검정에서 갈색 사이의 색을 나타내며 페오멜라닌은 적갈색에서 적황색, 황색에 이르는 밝은 계열의 색을 나타낸다⁽²⁴⁹⁾. 멜라닌의 양이 많고 과립의 크기대로 나열하면 흑색(black), 갈색(brown), 적색(red), 금발색(blonde), 백발(gray hair)⁽²⁵⁰⁾순이 된다.

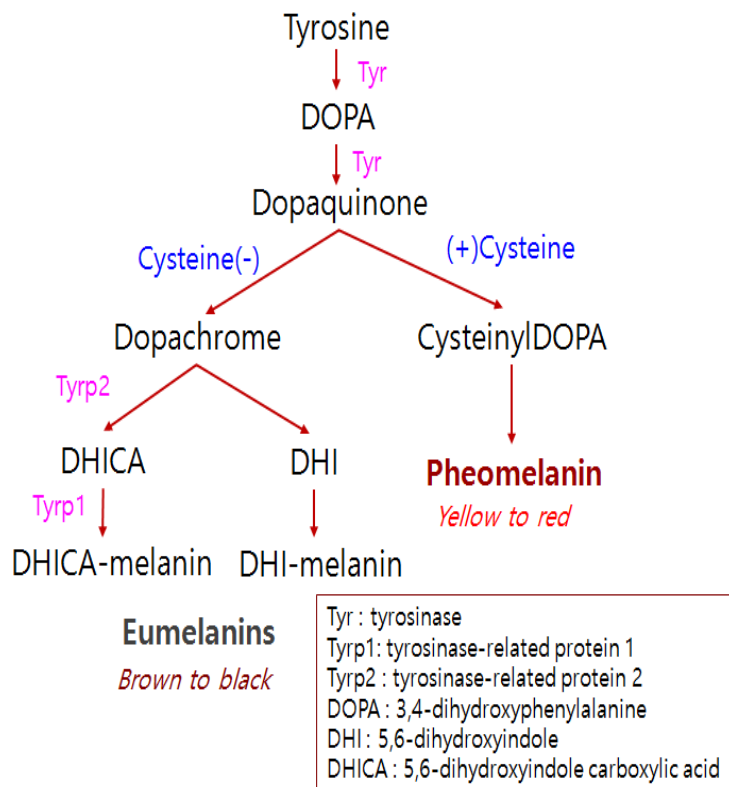


Fig. 6. Melanin biosynthesis procedure.

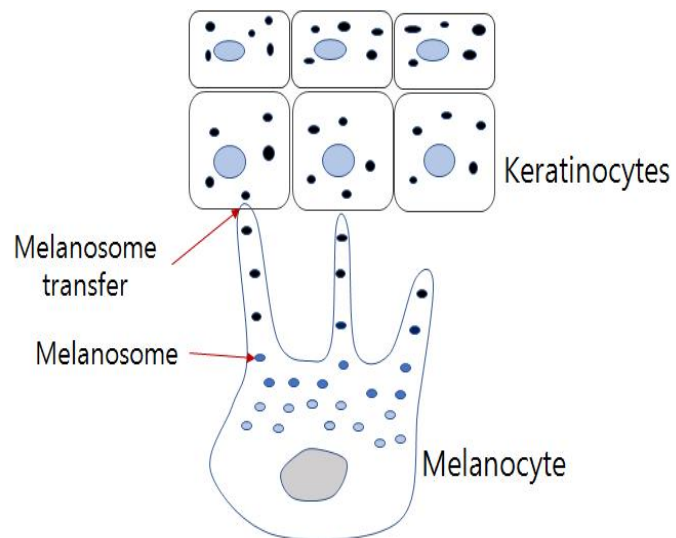


Fig. 7. Melanosome.

7. 탄닌

7.1 탄닌

탄닌이란 식물이 자신을 방어하는 데에 쓰이는 물질로 모든 과일과 나무에 함유되어 있는 성분이다⁽²⁵¹⁾. 단백질이나 다른 고분자와 강하게 결합하는 커다란 폴리페놀계 화합물을 총칭한다⁽²⁵²⁾. 1980년대에 들어서 약 400종류 이상의 탄닌의 구조가 밝혀졌다⁽²⁵³⁾. 기본 구조는 다가페놀로 구성되었고(Fg. 8), 이는 분자량 약 600~2000의 수용성 화합물이다. 탄닌의 성분은 구성 성분이 혼재되어 존재할 때 탄닌의 성질을 가지므로 화학적으로 명확히 구분하여 종류를 정의할 수는 없지만⁽²⁵⁴⁾, 쉽게 가수분해하는 가수분해형 탄닌과 분해에 비교적 안정한 축합형(비가수분해형) 탄닌⁽²⁵⁵⁾, 복합 탄닌으로 나뉜다⁽²⁵⁶⁾. 가수분해형 탄닌은 페놀산, 특히 마늘산과 단순 당을 포함하는 이질적인 중합체이다. 이들은 축합형 탄닌보다는 분자량이 적으며 약산만으로 더욱 쉽게 가수분해 될 수 있다⁽²⁵⁷⁾. 감, 녹차 등 고등식물에는 주로 분포하며, 식물성 탄닌은 단백질과 잘 결합하는 성질을 가지고 있다⁽²⁵⁸⁾. 복합 탄닌은 페놀산이 글루코즈와 결합하고 있으며, 주로 종자 껍질, 과일 등에 많이 분포되어 있다⁽²⁵⁹⁾. 탄닌의 수용액은 단백질, 알칼로이드, 석회 등과 같은 불용성 물질이 침전된다⁽²⁶⁰⁾. 흰색에 가까운 연 노란색에서 옅은 갈색을 띄며 그 산화물은 홍갈색, 홍색, 흑색을 나타낸다. 과실이 성숙하여짐에 따라 산화되어 안토시아닌으로 전환되고 또 중합되어 불용성 물질로 변해서 탄닌의 쓴맛이나 떫은맛이 소실된다⁽²⁶¹⁾. 약리 작용으로는 탄닌은 주로 수렴제로 활용되며 수렴지혈, 지사 억균, 점막을 보호하는 작용⁽²⁶²⁾, 항산화, 항종양 활성, 중금속 제거, 고혈압 및 통풍 치료의 효능⁽²⁶³⁾, 심혈관계 질환, 치매 예방 및 면역 능력 향상⁽²⁶⁴⁾, 항바이러스 작용, 항박테리아 작용, 항기생충 작용을 가지고 있으며, 일부의 연구 결과에서는 탄닌이 여러 가지 담

에서 서로 다른 메커니즘을 통해 암을 억제하는 것으로 밝혀졌다⁽²⁶⁵⁾.

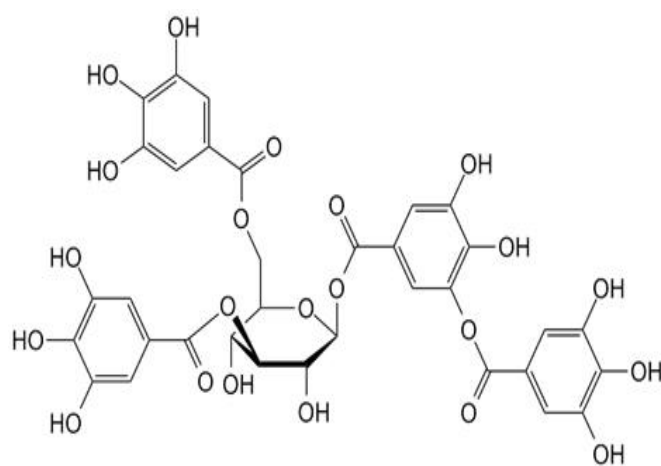


Fig. 8. Chemical formula of tannic acid.

7.2 탄닌의 유용성분

탄닌은 페놀성수산화기기로 인하여 단백질 또는 거대 분자들과 결합하는 성질 및 항산화 효과, 항균 효과⁽²⁶⁶⁾와 하염증 활성과 같은 피부 관련 생리 활성에 우수한 효과⁽²⁶⁷⁾를 지니고 있다. 식품 중에 다량으로 함유되어 있는 안토시아닌, 이소플라본, 루틴, 카테킨과 같은 성분들이 항산화 물질로 인간 건강에 유익한 것으로 알려지면서 식품 첨가물, 건강보조제로 많이 이용되고 있으며⁽²⁶⁸⁾, 혈관을 보호하여 건강에 유익한 효과를 나타내는 것으로 알려져 요즘 그 가치가 더해지고 있다⁽²⁶⁹⁾. 철이 존재할 경우에는 결합하여 탄닌철을 만들어 흑색으로 변한다고 알려져 있고⁽²⁷⁰⁾, 성분으로는 알루미늄, 구리, 철 등의 금속염을 잘 고정시키는 역할을 하며, 색이 잘 바래는 황련, 황벽 등의 황색계 염료와 섞어 염색하면 색이 오래 지속되고 높은 염색성을 기대할 수 있다⁽²⁷¹⁾. 염료로는 자연스런 색감과 인체에 대한 무독성 및 오염물 저배출⁽²⁷²⁾, 광취화 억제 효과를 갖는 것으로 보고되어 있다⁽²⁷³⁾. 뽕은 감 껍질에서의 탄닌을 이용한 폐수처리, 생활 하수 처리의 효과 등 연구 사례가 있다⁽²⁷⁴⁾. 이렇게 탄닌은 인류 생활에 유익한 성분을 다량 함유하고 있고, 여러 분야에서 다양한 용도로 사용되고 있다⁽²⁷⁵⁾.

7.3 문헌적 고찰

탄닌 관련 최근 10년의 선행연구와 관련 특허 내용은 다음과 같이 정리하였다. 첫 번째 선행 문헌을 살펴보면 탄닌 성분이 함유된 원두커피, 녹차 잎, 율피 추출물을 매염액으로 사용하여 녹차가 가장 염색성이 우수하게 나타났다고 하였다⁽²⁷⁶⁾. 무궁화 잎 추출액의 면직물에 탄닌산 가공처리한 염색포에서는 무매염포보다 염착량이 향상 되었다고 하였다⁽²⁷⁷⁾. 모발 염색시에 탄닌 흡착작용으로 지속력을 높여줄 수 있음을 확인하였다고 하였다⁽²⁷⁸⁾. 탄닌 성분이 함유된 복숭아 잎 추출물은 천연 화장품의 재료로서 유용성이 매우 높은 것으로 판단된다⁽²⁷⁹⁾고 하였다. 플로로탄닌은 항산화 작용을 통한 항염 효과를 가지고 있음을 확인하였고, 만성비세균성전립선염의 예방 및 치료 보조제로써 효과적인 역

할을 기대한다고 하였다⁽²⁸⁰⁾. 감의 탄닌 성분을 매개로 콜레스테롤 합성을 억제하고, 미성숙감은 중성지방 합성을 억제하고 성숙감은 담즙산 콜레스테롤과 중성지질대사 개선을 목적으로 한 기능성 소재로 개발될 가능성이 있는 것으로 판단하였다⁽²⁸¹⁾. 두 번째 탄닌의 관련된 특허로는 연옥과 감잎 탄닌의 유효성분이 포함되고, 감태에서 추출한 플로로 탄닌 혼합물을 함유한 염모제 조성물^{(282),(283),(284)} 등이 있다. 탄닌과 사포닌이 함유된 인삼꽃 발효물 제조 후 항염 및 미백기능이 우수한 자극 완화용 화장품 또는 미백용 화장품의 소재로 활용될 수 있다고 하였다⁽²⁸⁵⁾. 탄닌이 특히 많은 식료 과피에서 미백물질인 엘라그산(ellagic acid)을 분리하여, 엘라그산 추출액을 함유하는 기능성 화장품 조성물⁽²⁸⁶⁾ 등이 있다고 보고하였다. 감태로부터 추출한 플로로 탄닌 연구에서 아토피 피부염의 치료 또는 예방에 유용한 조성물⁽²⁸⁷⁾의 가능성을 제시하였다. 감 추출물 또는 탄닌을 유효성분으로 함유한 면역 관련 질환 치료용 약학 조성물⁽²⁸⁸⁾, 페놀화합물 등의 유효성분이 다량 함유되어 있고 현미·수수가루를 주원료로 한 라면의 면 제조방법에 관한 것⁽²⁸⁹⁾, 밤의 속껍질에 함유된 탄닌 성분을 함유하여 알밤 냉면 및 이의 제조방법에 관한 것⁽²⁹⁰⁾, 홍시의 탄닌과 우유 단백질의 응고 현상을 이용한 홍시 푸딩의 제조방법에 관한 것⁽²⁹¹⁾ 등이 있다. 블루베리 잎에 함유된 폴리페놀, 프로안토시아니딘, 탄닌, 등의 물질을 이용하여 기능성을 더욱 향상시킨 블루베리 와인⁽²⁹²⁾, 감 과육의 탄닌 외 성분을 이용한 감 막걸리⁽²⁹³⁾, 도토리 분말을 제조하여 사용함으로써 탄닌 성분이 풍부 하게 함유된 전통차⁽²⁹⁴⁾ 등이 있다. 폴리페놀과 탄닌 계열 화합물을 이용한 녹조 제거 및 수질 정화장치에 관한 것⁽²⁹⁵⁾, 탄닌 성분을 포함한 저알칼리 바이오 콘크리트를 이용한 친환경 탈출 수로관 및 제작방법에 관한 것⁽²⁹⁶⁾, 피혁 제조과정 중에 발생하는 고형 폐기물을 활용한 바이오 흡착제의 제조방법에 관한 것⁽²⁹⁷⁾, 녹차 씨 추출물을 이용한 탈취제 및 그 제조방법에 관한 것⁽²⁹⁸⁾ 등이 있다.

Ⅲ. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

1.1 실험재료

실험에 사용된 탄닌, 2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB), acetone, olive oil, paraformaldehyde, xylene 및 ethanol은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구매하여 사용하였고, TRIzol® RNA Isolation Reagents는 Life Technologies사(Carlsbad, CA, USA)에서 구매하여 사용하였다. Digital Camera, Aanimal Clipper, 제모크림 및 부재료는 재료상에서 구매하여 사용하였다.

1.2 실험동물

생후 5주된 male Balb/c 중 생쥐를 (주)샘타코(Samtako, Daejeon, Korea)에서 분양 받아 조선대학교 의과대학교 동물실험실에서 1주간 적응시킨 후 실험에 사용 하였다. 실내온도는 $20\pm 2^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $60\pm 5\%$, 조명 주기는 12시간 밤과 낮을 유지하였으며, 생쥐를 5마리씩 나누어 총 20마리를 실험에 사용하였으며, 조선대학교 동물실험 윤리 위원회 승인(승인번호: CLAUC 2018-A0006)을 받아 동물실험 윤리 규정을 준수하며 실험을 진행하였다.

2. 실험방법

2.1 용어 정리

본 실험에서 사용된 용어를 다음과 같이 정의한다.

실험군으로는 탄닌 투여군을 DNCB-DM+T로 정의하고 양성대조군에는 접촉성 피부염군을 DNCB-DM로 정의한다. 그리고 대조군으로는 무처리군으로서 Control로 정의하고 마지막으로 음성대조군에는 olive oil과 acetone을 3:1의 비율로 용해시킨 시료를 O,A로 정의한다.

2.2 피부염 유발 과정

생후 5주된 male Balb/c 종 생쥐를 (주)샘타코(Samtako)에서 분양받아 1주일 간 적응시킨 후 1차 실험과 2차 실험으로 Fig. 9와 같이 진행하였다. 1차 실험에서는 생쥐의 등 부위를 제모한 후 3주간 DNCB(Olive oil:acetone=3:1)를 이용해 접촉성 피부염을 일으켰다. 접촉성 피부염이 일어난 생쥐는 2차 실험에서 5마리씩 총 20마리를 실험군인 DNCB-DM+T군, 양성대조군인 DNCB-DM군, 대조군인 Control군, 음성대조군인 O,A군으로 구분하여 실험하였다. 시료 도포는 1차 실험에 1% DNCB 용액을 주 2회 0.2mL 붓을 이용하여 경피 도포하여 피부염을 일으켰다. 2차 실험은 Table 1.과 같이 진행 하였다. 시료 도포는 0.1% DNCB 용액을 1차 실험과 동일한 방법으로 경피 도포 하였으며, 사료는 자유로이 공급하였다. 2차 실험 기간 동안 실험군인 DNCB-DM+T군에만 수돗물 200ml에 탄닌을 0.2(W/V) 농도로 용해시켰으며, DNCB-DM군, Control군, O,A군 모두 수돗물 200ml을 동일한 조건으로 자유로이 공급하였다.

Table 1. Experimental design

Experimental groups	Treatment	
	0.1% DNCB	Drinking water
DNCB-DM+T	4weeks for 8weeks	0.2 tannin for 4weeks
DNCB-DM	4weeks for 8 weeks	Tap water
Control	No	Tap water
O,A	No	Tap water

DNCB-DM+T: 0.1% DNCB application and 0.2(W/V) tannic acid feeding from 3 weeks after 1% DNCB application.
 DNCB-DM: DNCB application; 0.1% DNCB in olive oil-acetone solution, Control: tap water feeding, O,A: Olive oil-acetone control.

2.3 육안적 관찰(외형효과)

실험 시작일로부터 8주(56일)동안 1차와 2차 실험으로 진행하였으며, 1차 실험에서는 경피의 변화가 접촉성 피부염이 진행됨을 확인한 후 2차 실험에 들어갔다. 2차 실험에서는 DNCB-DM+T군, DNCB-DM군, Control군, O,A군 총 4군으로 구분하였고, 주 1회씩 디지털카메라를 이용하여 촬영을 하였다.

2.4 조직학적 분석(Hematoxylin & Eosin)

조직학적인 분석은 실험시작 8주째 생쥐를 경추 도살 시킨 다음 경피 부분을 적출해 H & E 염색을 다음과 같이 진행하였다. 피부조직을 0.5cm×1cm 크기로 잘라서 10% paraformaldehyde 용액에 12시간 동안 침전하여 고정시킨 후 99% ethanol로 탈수과정을 거친 다음 파라핀에 포매(embedding) 하였다. 파라핀에 포매된 피부조직을 조직절편 제작용 Microtome(Finesse 325; Thermo Scientific), 현미경 관찰용 슬라이드 글라스 위에 붙이고 파라핀을 제거하는 과정(Xylene I, II, III→100% EtoH I, II→95% EtoH I, II→90% EtoH→80% EtoH→70% EtoH, 각 10분씩)을 진행하였다. 파라핀이 제거된 피부조직 절편은 1% Hematoxylin(Merck Co., Darmstadt, Germany)과 1% Eosin(Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 이용하여 염색한 후 광학현미경(BX51; Olympus Ltd., Tokyo, Japan)으로 조직 소견을 관찰하였다(Fig. 10).

2.5 피부 조직 전사체(Transcriptome) 분석

절제된 피부 조직에서 지방층을 제거하고 TRIzol® RNA Isolation Reagents(Life Technologies, Carlsbad, CA, USA)를 이용하여 total RNA를 분리하였다. Agilent RNA 6000 Pico Kit(Agilent, Santa Clara, CA, USA)와 BioAnalyzer 2100 Automated Electrophoresis System(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)을 이용하여 피부조직에서 분리한 total RNA의 안정성을 분석하였다. 피부조직에서 분리한 RNA는 안정성을 확인한 후 TruSeq®stranded mRNA

Sample Preparation kit(Illumina, San Diego, CA, USA)을 이용하여 제조사의 실험방법에 따라서 mRNA sequencing library를 만들었다. 피부조직 mRNA library는 Agilent DNA High Sensitivity Kit(Agilent, Santa Clara, CA, USA)를 이용하여 Bioanalyzer 2100으로 분석하고, CFX96 Real Time System(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)을 이용하여 정량분석 하였다. 각각의 피부조직 mRNA library는 Illumina HiSeq 2500을 이용하여 RNA sequencing 분석을 시행하였다. 피부조직 cDNA libraries는 TruSeq flow cell을 이용하여 cDNA libraries의 clusters를 만든 다음 TruSeq 200 Cycle SBS Kit(Illumina, San Diego, CA, USA)를 이용하여 100bp-end read로서 염기서열을 분석하였다. cDNA libraries의 염기서열 정보는 FASTQ format에 저장된 정보와 비교하여 분석하였고, Gen Mapping 분석은 TopHat2(<http://tophat.cbcb.umd.edu>)와 bowtie2(<http://bowtie-bio.sourceforge.net>)를 이용하였다. 각 실험군 간의 유전자 발현량 차이(differentially expressed gens(DEG)는 reads per kilobase per million mapped reads(RPKM) 값을 이용하였고, 통계적 유의성은 DEG analysis by CuffDiff(<http://cufflinks.cbcb.umd.edu>)을 이용하여 분석한 후 Fold-change False Discovery Rate(FDR)가 $p < 0.05$ 인 것을 유의한 것으로 하였다. Functional gene set의 분석은 DAVID Bioinformatics Resources 6.7, NIH(<http://david.abcc.ncifcrf.gov>)를 이용하여 분석하였다(Fig. 11).

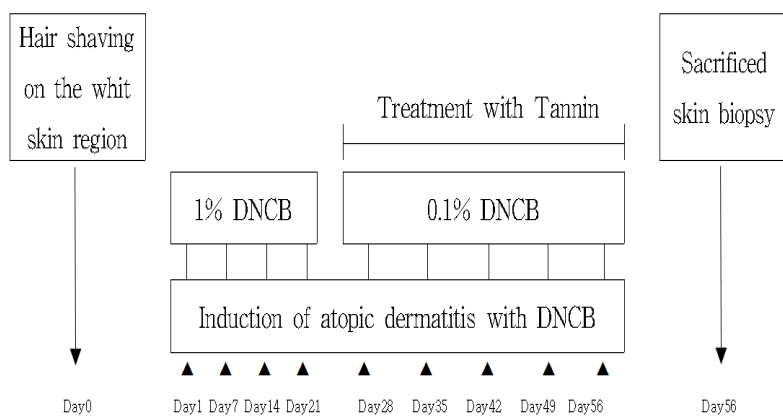


Fig. 9. Diagram of experimental procedure⁽⁷⁷⁾.

- QC/adaptor sequence trimming for raw FASTQ sequences
 - Raw read quality evaluation by **FastQC** (<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>) with default options
 - Adapter sequence trimming by **CutAdapt** (<https://pypi.python.org/pypi/cutadapt>)
- Mapping on rat reference genome
 - By **TopHat2** (<http://tophat.cbcb.umd.edu>) and **bowtie2** (<http://bowtie-bio.sourceforge.net>)
- Expression and DEG analysis
 - Expression analysis by **CuffLinks** (<http://cufflinks.cbcb.umd.edu>) with default options
 - DEG analysis by **CuffDiff** (<http://cufflinks.cbcb.umd.edu>) with significance threshold as **FDR<0.05, p-value<0.001/0.01**
 - **Scatter plot** and **volcano plot** by in-house **R scripts**
 - **Unsupervised clustering** by in-house **R scripts**
- Functional category analysis
 - Gene set overlap-based pathway analysis with DEGs by **DAVID** (<http://david.abcc.ncifcrf.gov>) for **Gene Ontologies** and **KEGG pathways**

Fig. 10. Tools and Parameters.

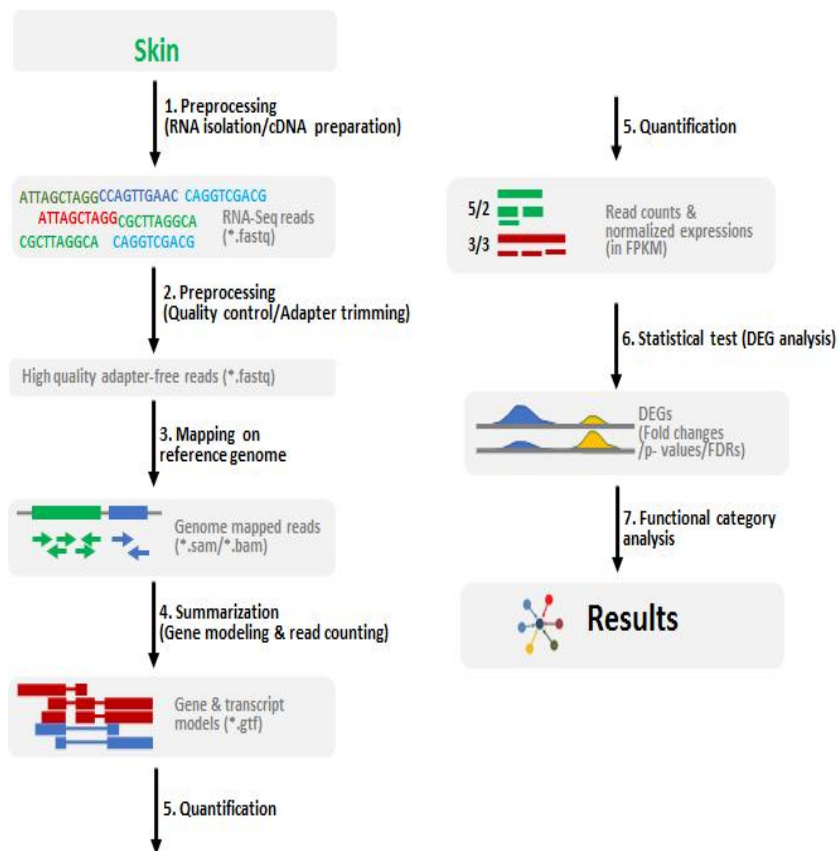


Fig. 11. Transcriptomes Analysis flow.

IV. 실험 결과 및 고찰

탄닌이 접촉성 피부염에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위해 Balb/c 생쥐를 제모한 후 DNCB를 이용해 피부염을 유발시켰다. 탄닌이 피부염 생쥐의 모발성장에 미치는 영향을 육안적으로 관찰하였고, total RNA를 분리한 후 전사체 분석을 통하여 대조군과 유전자 발현의 차이를 비교 하였으며 결과는 다음과 같다.

1. 탄닌 투여가 DNCB 피부염 생쥐의 피부 증상에 미치는 영향

탄닌이 모발성장에 어떠한 영향을 미치는지 알아보고자 실험 시작일로부터 8주(56일)동안 1차와 2차 실험으로 진행하였으며, 1차 실험에서는 경피의 변화가 접촉성 피부염이 진행됨을 확인한 후 2차 실험에 들어갔다(Fig. 12). 2차 실험에서는 DNCB-DM+T군, DNCB-DM군, Control군, O,A군 총 4군의 피부변화를 주 1회씩 디지털카메라를 이용하여 촬영을 하였다. 그 결과는 다음과 같다(Fig. 13). Control군과 O,A군의 피부 증상은 2차 실험 시작 3주와 5주에 관찰한 결과 피부발진, 구진 및 가피형성 등의 피부염 증상이 전혀 나타나지 않았다. DNCB-DM군의 피부 증상은 3주와 5주에 모두 피부발진, 구진, 습진 및 가피형성 등의 피부 염증상이 현저히 나타났다. DNCB-DM+T군의 피부 증상은 3주와 5주에 피부발진, 구진, 습진 및 가피형성 등의 피부 염증상이 나타났으나 DNCB-DM군보다는 그 수가 현저히 감소하였다. 다음은 DNCB로 접촉성 피부염 유발 기간인 21일과 실험 8주째 56일을 비교 육안 관찰 하였다(Fig. 14). 21일째 Control군과 O,A군을 제외한 나머지 군들에서 피부발진 구진, 습진 및 가피형성 등의 피부염 증상이 나타났다. 56일째 DNCB-DM군은 피부발진, 구진, 습진 및 가피형성 등의 피부염 증상이 남아있었고, DNCB-DM+T군은

DNCB-DM군보다 피부발진, 구진, 및 가피형성 등의 피부염 증상이 거의 나타나지 않았다.

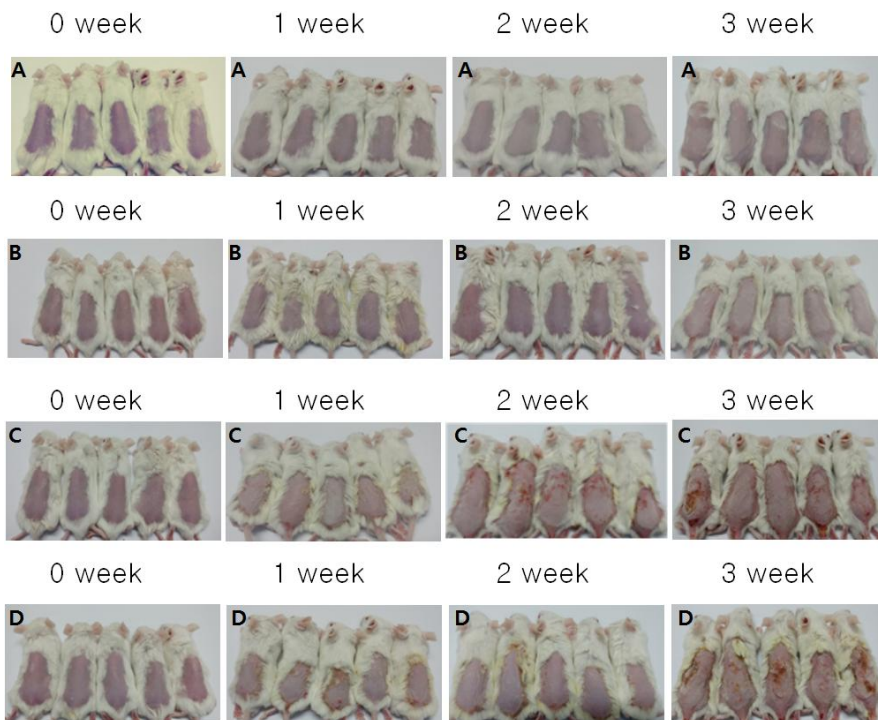


Fig. 12. First experiment(0~3weeks): A: Control and B: Olive oil-acetone; C: DNCB - DM(dermatitis); D: DNCB-DM+T(dermatitis).

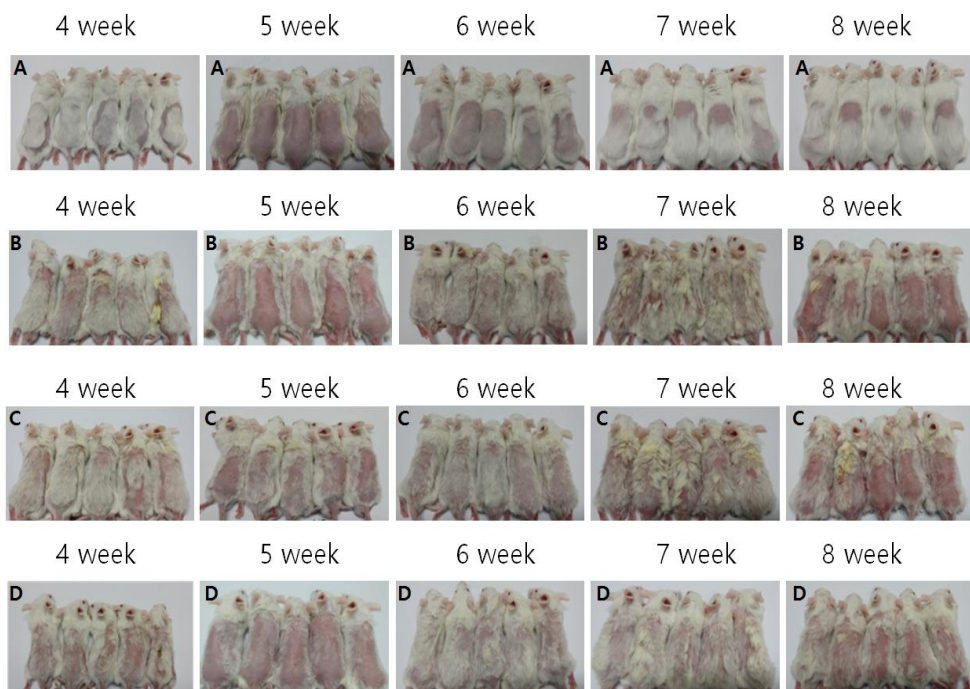


Fig. 13. Second experiment(4~8weeks): dermatitis induced with Tannin; A: Control; B: Olive oil-acetone; C: DNCB - DM(dermatitis); D: DNCB-DM+T(Tannin).

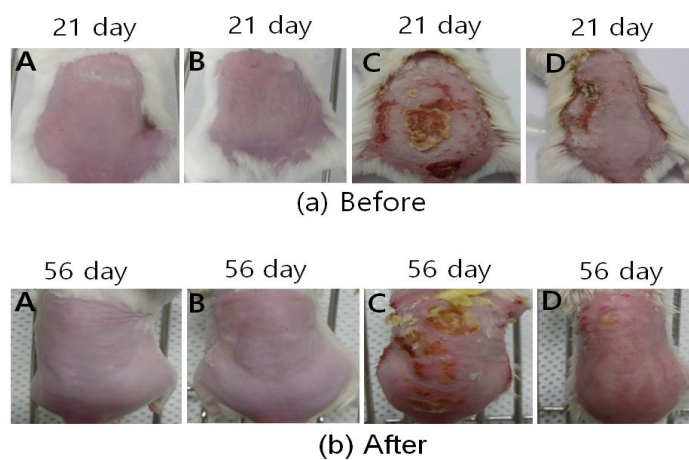


Fig. 14. dermatitis induced(21day); dermatitis induced with tannin(56day); A: Control; B: Olive oil-acetone; C: DNCB - DM (dermatitis); D: DNCB-DM+T(Tannin).

2. 탄닌 투여가 DNCB 피부염 생쥐의 피부 조직 소견에 미치는 영향

탄닌 투여가 DNCB 피부염 생쥐의 피부조직 소견에 미치는 영향을 관찰하기 위해 실험시작 56일째에 생쥐를 경추 도살 시키고 피부를 적출하여 고정시켰다. H&E 염색을 한 후 광학현미경으로 관찰한 결과는 Fig. 15와 같다. DNCB-DM군은 피부 표피층과 진피층의 경계가 뚜렷하지 않고, 표피층의 각질층 손상이 커서 대부분 소실된 것으로 나타났다. 모낭의 형태도 일정하지 않고, 경계도 뚜렷하지 않아서 Control군과는 차이가 있었다. Control군은 피부 표피층과 진피층의 경계가 뚜렷이 보였고, 표피층의 각질층이 손상되지 않고 잘 보존되어 있었다. 모낭은 경계가 분명하고 모낭세포도 손상되지 않고 뚜렷하게 보였다. O,A군은 피부 표피층과 진피층의 경계가 뚜렷이 보였고, 표피층의 각질층 손상이 다소 나타났다. 모낭은 경계가 뚜렷해졌고, 모낭의 형태와 세포도 명확하게 보여서 DNCB-DM군보다 손상이 더 적은 것으로 나타났다. DNCB-DM+T군은 피부 표피층과 진피층의 경계가 뚜렷하게 보였고, 표피층의 각질층은 Control군보다는 더 얇았으나 전체적으로 나타났다. 모낭은 경계가 뚜렷해졌고, 모낭의 형태와 세포도 명확하게 보여서 DNCB-DM군보다 손상이 더 적은 것으로 나타났다. 김종명의 연구에서 인진호 추출물로 인한 항산화 실험 결과 마우스 귀의 부종과 염증 세포의 수가 감소하는 현상을 확인하였다고 보고 되었다⁽²⁹⁹⁾.

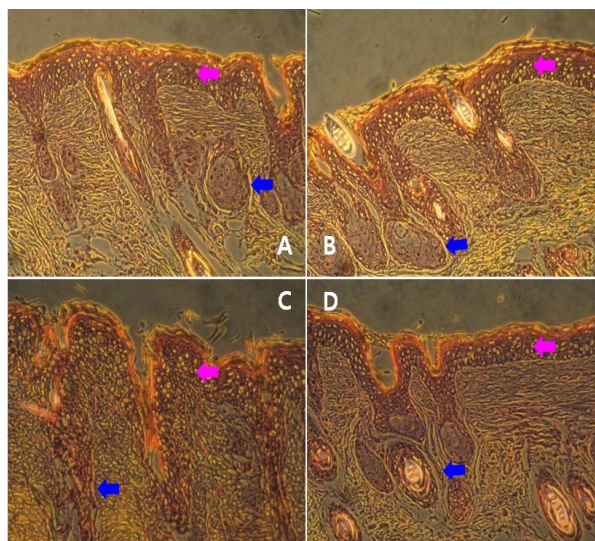


Fig. 15. Histological features of the skin in the dinitrochlorobenzene(DNCB)-treated Balb/c mice at 8weeks after the start of DNCB administration. Hematoxylin & Eosin(HE) stain, original magnification $\times 200$. A: Control; B: Olive oil-acetone; C: DNCB-DM(dermatitis); D: DNCB-DM+T (tannin).

3. DNCB 피부염 생쥐의 모발 주기 관련 유전자의 발현 변화

실험시작 56일째에 생쥐를 경추 도살시키고 피부를 적출하여 total RNA를 분리한 후 전사체 분석을 통하여 대조군과 유전자 발현의 차이를 비교하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 -1 이하이고 p 값이 0.05 이하인 모발주기 관련 유전자는 Table 2와 같다. DNCB-DM의 피부조직 G protein-coupled receptor(Gprc5d), desmoglein 4(Dsg4), keratin associated protein 4-16(Krtap 4-16), patched 2(Ptch2), homeobox C13(Hoxc13), forkhead box Q1(Foxq1), forkhead box N1(Foxn1) 및 adenomatosis polyposis coli down-regulated 1(Apcdd1) mRNA량이 DNCB-DM군에 비하여 감소되었다.

G 단백질 연결 수용체(G protein coupled receptor)는 세포막을 7번 통과하는 구조로 된 막 단백질로서 생체내에서 800~1000개 정도의 수용체의 종류가 있고, 사실상 생체내의 거의 모든 생리적 반응을 나타내는 수용체이다⁽³⁰⁰⁾. GPRC5D는 G 단백질 연결 수용체의 한 종류로서 모낭에서 GPRC5D 전사체는 모발 케라틴 합성의 조절에 관여하며 모발주기 중기 및 후기 anagen 과 catagen 기에 발현되며, telogen 및 초기 anagen 기에는 발현되지 않아서 모발 주기 조절에 관련된 것으로 알려져 있다⁽³⁰¹⁾. 본 실험에서 GPRC5D 발현량이 DNCB 피부염군의 피부조직에서 대조군에 비하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 -5.6 으로 감소되어 모발 케라틴 합성과 모발주기에 장애가 나타날 것으로 생각된다. Msx2는 본 실험에서 Msx2 발현량이 DNCB 피부염군의 피부조직에서 대조군에 비하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 -4.7 으로 감소되어 모낭의 재생에 장애가 나타날 것으로 생각된다. Ptch2는 모낭 발달에 관여하는 유전자로 알려져 있는데⁽³⁰²⁾, 본 실험에서 Ptch2 발현량이 DNCB 피부염군의 피부조직에서 대조군에 비하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 -4.6 으로 감소되어 모낭의 발달에 장애가 나타날 것으로 생각된다.

모낭의 발달과 성장에 관련된 여러가지 신호전달체계들이 보고되고 있는데, 모두두 세포 내 Wnt/ β -catenin이 관여하는 신호전달체계가 모낭세포와 상피세

포간의 상호작용에 중요하다고 보고되고 있다⁽³⁰³⁾. Wnt10b 는 모낭의 성장을 촉진하여 모발성장 주기의 telogen에서 anagen으로의 전환을 유도하는 것으로 알려져 있는데⁽³⁰⁴⁾, 본 실험에서 Wnt10b 발현량이 DNCB 피부염군의 피부조직에서 대조군에 비하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 - 4.4로 감소되어 모낭의 성장에 장애가 나타날 것으로 생각된다. DSG4 단백질은 막 단백질 desmosomes의 구성 요소로서 상피 세포에서 세포와 세포사이의 접착(adhesion)에 관여한다. 모발에서는 모낭 세포에서 발견되며 desmoglein 4가 모낭 각질세포를 증식에서 분화로 전환하는 조절인자로 알려져 있는데⁽³⁰⁵⁾, 본 실험에서 DSG4 발현량이 DNCB 피부염군의 피부조직에서 대조군에 비하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 - 4.0 으로 감소되어 모낭의 분화에 장애가 나타날 것으로 생각된다. 모발은 모낭에서 생성되는 고도의 정교한 각질구조로서, 모간(hair shaft)은 피질이 큐티 클 층에 둘러 쌓여 있는 구조이며 피질 중앙에 수질층이 있다. 모발의 주요 구성 성분은 모발 케라틴과 모발 케라틴 연관 단백질(Hair keratin - associated protein :KRTAP)이다⁽³⁰⁶⁾. Krtap4-16 는 모발케라틴 연관 단백질중 하나로 본 실험에서 Krtap4-16 발현량이 DNCB 피부염군의 피부조직에서 대조군에 비하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 - 2.8 로 감소되어 모간의 형성에 장애가 나타날 것으로 생각된다. Hoxc13은 모낭 분화에 중요한 역할을 한다고 보고되어 있는데, 본 실험에서 Hoxc13 발현량이 DNCB 피부염군의 피부조직에서 대조군에 비하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 - 2.7 로 감소되어 모발주기 조절에 장애가 나타날 것으로 생각된다. Hoxc13은 TGF- β 1 신호 전달을 억제함으로써 anagen 과 catagen transition 상태를 차단하는 작용을 하여 모발주기를 조절하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다⁽³⁰⁷⁾. Apccdd1은 모근세포에 발현되는 단백질로서 모발의 성장에 관여하는 Wnt signaling 을 억제하는 작용이 있는 것으로 알려져 있는데⁽³⁰⁸⁾, 본 실험에서 Apccdd1 발현량이 DNCB+DM군의 피부조직에서 Control군에 비하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 - 2.3 으로 감소되어 모발성장에 장애가 나타날 것으로 생각된다. Sox21 모간을 생성하는 모근세포에서 발현되는 단백질로 모근세포의 분화에 관여하는

것으로 알려져 있는데⁽³⁰⁹⁾ 본 실험에서 Sox21 발현량이 DNCB 피부염군의 피부조직에서 대조군에 비하여 log2(FC) 값이 -2.1 로 감소되어 모근세포 분화에 장애가 나타날 것으로 생각된다.

모발은 모세혈관을 통해 영양과 산소를 모모세포가 공급받아 세포 분열하여 각화 과정을 통해 성장되어져 나오는 것으로⁽³¹⁰⁾, 생물학적으로는 줄기세포의 저장고, 피하내의 성장인자, cytokine, 신경전달 물질, 호르몬의 공급원으로서의 중요성을 지닌다⁽³¹¹⁾. 모발은 표피, 피질, 수질로 되어 있으며, 표피는 비늘 모양의 다층구조로 관찰된다. 표피를 구성하는 주단백질은 소수성 단백질인 케라틴이며, 피질에는 콜라겐 단백질과 함께 색상을 결정하는 멜라닌 색소도 포함되어 있다⁽³¹²⁾. 모유두에 접하고 있는 세포를 모기질 세포 혹은 모모세포라고 하며, 세포의 분열과 증식에 관여하여 새로운 모발세포를 만드는 작용을 한다⁽³¹³⁾. 모세혈관으로 산소와 영양분을 공급하고 모발성장을 조절하며 모질 및 굵기를 결정하는 특징을 가진다. 모낭은 모발 생산 및 보호를 하고 모발 지지대⁽³¹⁴⁾ 역할을 한다. 사람의 모발은 평생 자라는 것이 아니라 각각의 독립적인 고유한 모낭 주기를 가지고 있어 지속적으로 모발성장과 탈락을 반복한다. 머리카락은 일생동안 평균 15회 정도의 성장과 탈락이 반복되는 주기를 가진다⁽³¹⁵⁾. 모발의 성장과정은 성장기(anagen), 퇴행기(catagen), 휴지기(telogen)로 구분된다⁽³¹⁶⁾. 성장기는 모유두 내의 모모세포가 모세혈관으로부터 영양을 공급받아 세포분열이 왕성해지는 단계로 전체 모발의 80~90%를 차지한다. 개인의 건강상태나 연령에 따라 차이는 있으나 보통 3~6년 정도이며 1개월에 1~1.5cm 자라난다⁽³¹⁷⁾. 퇴행기는 2~3주간 지속되며 그 후 곧 모기질 세포에서 세포분열이 감소하다가 결국 정지되어 휴지기에 들어간다. 모유두와 모구부가 분리되고 모낭이 위축되면서 혈액 공급이 중단된다. 전체 모발의 1%를 차지하며 모발 생성이 점점 느려져서 성장을 멈춘다⁽³¹⁸⁾. 휴지기엔 모발 끝이 곤봉 모양으로 변화되면서 모발이 자연적으로 모낭에서 탈락된다. 하루에 50~150개의 모발이 빠지며 2~3 개월 지속되며, 다시 성장기로 반복하게 된다⁽³¹⁹⁾. 모낭은 모발의 발달과 성장에 매우 중요한 역할을 담당하고 있다. 배아초기단계에서 나타나는 모낭의 형성은 주로 모낭 니치(niche) 안에서의 상피-간엽 상호작용을 통해 조절되며, 출생 이후

의 모발성장 주기와 재생에도 관여한다⁽³²⁰⁾. 모낭은 간엽조직에서 유래되어진 모유두(dermalpapilla, DP), 모초(dermalsheath)와 상피세포(epithelialcell)에서 유래되어진 외모근초, 내모근초, 기질, 모간 등으로 이루어져 있다⁽³²¹⁾. 모낭 성장을 조절하는 모낭외적인 물질에는 내분비적으로 안드로겐·갑상선 호르몬, 에스트로겐, 코티졸 등이 있으며, 산소, 신경펩타이드와 카테콜아민과 같은 신경적 요인, 비만세포, 대식세포와 같은 면역학적인 요소가 작용한다⁽³²²⁾.

Table 2. Alterations of hair cycle related genes
in skin of DNCB-dermatitic mice by RNA-seq analysis

Gene	Counts (average)		log2(FC)	P value	Q value
	Control	DNCB-DM			
Gprc5d	590.5	11.9	-5.6	0.0001	0.005
Msx2	88.6	3.5	-4.7	0.0001	0.005
Ptch2	24.2	1.0	-4.6	0.0004	0.022
Wnt10b	17.8	0.8	-4.4	0.0011	0.048
Dsg4	17.1	1.0	-4.0	0.0001	0.005
Krtap4-16	253.5	36.2	-2.8	0.0001	0.005
Hoxc13	119.9	17.9	-2.7	0.0001	0.005
Apcdd1	47.4	9.8	-2.3	0.0005	0.029
Sox21	44.9	10.7	-2.1	0.0009	0.042

Gprc5d : G protein-coupled receptor, Msx2 : msh homeobox 2, Ptch2 : patched 2, Wnt10b : wingless-type MMTV integration site family, Dsg4 : desmoglein 4, Krtap4-16 : keratin associated protein 4-16, Hoxc13 : homeobox C13, Apcdd1: adenomatosis polyposis coli down-regulated 1, Sox21 :SRY (sex determining region Y)-box 21.

4. DNCB 피부염 생쥐의 멜라닌 생합성 관련 유전자의 발현 변화

실험시작 8주째 생쥐를 경추 도살시키고 피부를 적출하여 total RNA를 분리한 후 전사체 분석을 통하여 대조군과 유전자 발현의 차이를 비교하여 $\log_2(FC)$ 값이 -1 이하이고 p 값이 0.05 이하인 멜라닌 생합성(melanin biosynthesis) 관련 유전자는 Table 3과 같다. DNCB-DM군의 피부조직 tyrosinase(Try), oculocutaneous albinism II(Oca2), tyrosinase-related protein 1(Tyrp1) 및 dopachrome tautomerase(Dct) mRNA 양이 대조군에 비하여 감소되었다. 티로시나제는 멜라닌 생합성과정을 조절하는 가장 중요한 효소로서 L-tyrosine을 3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA)으로 L-DOPA를 Dopaquinone으로 전환시키는 2단계 반응을 촉매 하는 작용을 한다⁽³²³⁾. 본 실험에서 Try 발현량이 DNCB 피부염군의 피부조직에서 대조군에 비하여 $\log_2(FC)$ 값이 -5.2 로 감소되어 멜라닌 생합성과정이 억제되어 있을 것으로 생각된다. Oca2는 멜라노사이트의 세포막에 위치한 막 단백질로서 멜라닌 합성의 재료로 이용되는 티로신을 멜라노사이트내로 이동시키는 작용을 하는 것으로 알려져 있는데⁽³²⁴⁾, 본 실험에서 Oca2 발현량이 대조군에서 7.8 이었으나, DNCB 피부염군의 피부조직에서 0 으로 나타나서 멜라닌 생합성이 억제되어 있을 것으로 생각된다. Tyrp1은 멜라닌 합성에 관여하는 멜라닌 세포 특이 유전자로서 디하이드록시인돌 카복실산 산화 효소(dihydroxyindole carboxylic acid oxidase) 활성을 가지고 있으며, 멜라노솜(melanosome) 구조의 유지와 멜라닌 세포 증식 및 세포 사멸에도 관여 된 것으로 알려져 있다⁽³²⁵⁾. 본 실험에서 Tyrp1 발현량이 DNCB 피부염군의 피부조직에서 대조군에 비하여 $\log_2(FC)$ 값이 -3.8 로 감소되어 멜라닌 합성이 억제될 것으로 생각된다. Dct는 tyrosine-related protein 2(Tyrp2)로도 알려져 있으며 멜라닌 합성에 관여하는 멜라닌 세포 특이 유전자로서 도파크롬(Dopachrome)을 디하이드록시인돌 카복실산(dihydroxyindole carboxylic acid: DHICA)로 전환시키는 작용을 한다⁽³²⁶⁾. 본 실험에서 Dct 발현량이 DNCB 피부염군의 피부조직에서 대조군에 비하여

$\log_2(\text{FC})$ 값이 -3.7 로 감소되어 멜라닌 합성이 억제될 것으로 생각된다.

Table 3. Alterations of melanin biosynthetic process related genes in skin of DNCB-dermatitic mice by RAN-seq analysis

Gene	Counts (average)		log2(FC)	P value	Q value
	Control	DNCB-DM			
Tyr	10.6	0.3	-5.2	0.0006	0.031
Oca2	7.8	0.0	-Inf	0.0001	0.005
Tyrp1	91.0	6.3	-3.8	0.0001	0.005
Dct	190.2	14.5	-3.7	0.0001	0.005

Tyr : tyrosinase, Oca2 : oculocutaneous albinism II, Tyrp1: tyrosinase-related protein 1, Dct : dopachrome tautomerase

5. 탄닌이 DNCB 피부염 생쥐의 모발 주기 관련 유전자의 발현 변화

실험시작 56일째에 생쥐를 경추 도살시키고 피부를 적출하여 total RNA를 분리한 후 전사체 분석을 통하여 대조군과 유전자 발현의 차이를 비교하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 -1 이하이고 p 값이 0.05 이하인 모발주기 관련 유전자는 Table 4와 같다. DNCB-DM+T군의 피부조직 G protein - coupled receptor(Gprc5d), desmoglein 4(Dsg4), keratin associated protein 4-16(Krtap 4-16), patched 2(Ptch2), homeobox C13(Hoxc13), forkhead box Q1(Foxq1), forkhead box N1(Foxn1) 및 adenomatosis polyposis coli down-regulated 1(Apcdd1) mRNA 량이 DNCB-DM군에 비하여 증가하였다. GPRC5D는 G 단백질 수용체의 한 종류로서 모낭에서 모발 케라틴 합성이 조절하여 모발주기의 조절에 관여하며, 모발주기 중반 및 후반 퇴행기와 성장기에 발현되며, 휴지기 및 초반 성장기에는 발현되지 않는 것으로 알려져 있다⁽³²⁷⁾ 본 실험에서 GPRC5D 발현량이 DNCB-DM+T군의 피부조직에서 DNCB-DM군에 비하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 7.0 으로 증가되어 DNCB 처리로 나타났던 모발 케라틴 합성과 모발주기에 장애가 탄닌 투여로 회복된 것으로 생각된다. Dsg4 단백질은 상피 세포 사이의 접착(adhesion)에 관여하는 막 단백질로서, 모낭에서 모낭 각질세포 분화 조절인자로 알려져 있는데⁽³²⁸⁾, 본 실험에서 Dsg4 발현량이 DNCB-DM+T군의 피부조직에서 DNCB-DM군에 비하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 5.4 로 증가되어 DNCB 처리로 나타났던 모낭 각질세포 분화 조절 장애가 탄닌 투여로 회복된 것으로 생각된다. Krtap4-16은 모발을 구성하는 모발 케라틴 연관 단백질 중 하나로 본 실험에서 Krtap4-16 발현량이 DNCB-DM+T군의 피부조직에서 DNCB-DM군에 비하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 4.7 로 증가되어 DNCB 처리로 나타났던 모발 형성 장애가 탄닌 투여로 회복된 것으로 생각된다. Ptch2는 모낭 발달에 관여하는 유전자로 알려져 있는데⁽³²⁹⁾, 본 실험에서 Ptch2 발현량이 DNCB-DM+T군의 피부조직에서 DNCB-DM군에 비하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 4.2 로 증가되어 DNCB 처리로 나타났던 모낭의 발현 장애가 탄닌 투여로 회복된 것으로 생각된다. Hoxc13은 모

낭 분화를 조절하여 모발주기에 관여하는 것으로 보고 되어있는데⁽³³⁰⁾, 본 실험에서 Hoxc13 발현량이 DNCB-DM+T군의 피부조직에서 DNCB-DM군에 비하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 2.9로 증가되어 DNCB 처리로 나타났던 모낭 분화의 장애가 탄닌 투여로 회복된 것으로 생각된다. Foxq1은 모낭세포 분화에 관여하는 단백질로서 알려져 있는데⁽³³¹⁾, 본 실험에서 Foxq1 발현량이 DNCB-DM+T군의 피부조직에서 DNCB-DM군에 비하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 2.6으로 증가되어 DNCB 처리로 나타났던 모낭세포 분화의 장애가 탄닌 투여로 회복된 것으로 생각된다. Foxn1은 모낭발달에 관여하는 단백질로 알려져 있는데⁽³³²⁾, 본 실험에서 Foxn1 발현량이 DNCB-DM+T군의 피부조직에서 DNCB-DM군에 비하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 2.5로 증가되어 DNCB 처리로 나타났던 모낭 발달 장애가 탄닌 투여로 회복된 것으로 생각된다. Apcdd1은 모근세포에 발현되는 단백질로 모발의 성장에 관여하는 Wnt signaling을 억제하는 작용이 있는 것으로 알려져 있는데⁽³³³⁾, 본 실험에서 Apcdd1 발현량이 DNCB-DM+T군의 피부조직에서 DNCB-DM군에 비하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 2.3으로 증가되어 DNCB 처리로 나타났던 모발성장에 장애가 탄닌 투여로 회복된 것으로 생각된다.

Table 4. Select skin transcripts related to hair cycle in tannin treated DNCB-dermatitic mice by RNA-seq analysis

Gene	Counts (average)		log2(FC)	P value	Q value
	DNCB-DM	DNCB-DM+T			
Gprc5d	11.9	1554.9	7.0	0.0001	0.005
Dsg4	1.0	45.2	5.4	0.0001	0.005
Krtap4-16	36.2	957.3	4.7	0.0001	0.005
Ptch2	1.0	19.1	4.2	0.0005	0.029
Hoxc13	17.9	135.9	2.9	0.0001	0.005
Foxq1	13.1	78.5	2.6	0.0003	0.017
Foxn1	11.9	68.9	2.5	0.0001	0.005
Apcdd1	9.8	48.1	2.3	0.0003	0.017

DNCB-DM: DNCB-dermatitic mice, DNCB-DM+T: tannic acid treated DNCB-dermatitic mice, Gprc5d: G protein-coupled receptor, family C, group 5, member D, Dsg4: desmoglein 4, Krtap4-16: keratin associated protein 4-16, Ptch2: patched, Hoxc13: homeobox C13, Foxq 1: forkhead box Q1, Foxn1: forkhead box N1, Apcdd1: adenomatosis polyposis coli down-regulated 1.

6. 탄닌이 DNCB 피부염 생쥐의 멜라닌 생합성 관련 유전자의 발현 변화

실험시작 56일째에 생쥐를 경추 도살 시키고 피부를 적출하여 total RNA를 분리한 후 전사체 분석을 통하여 대조군과 유전자 발현의 차이를 비교하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 -1 이하이고 p 값이 0.05 이하인 멜라닌 생합성 관련 유전자는 Table 5와 같다. DNCB-DM+T군의 피부조직 Ttyrosinase(Tyr), oculocutaneous albinism II(Oca2), tyrosinase-related protein 1(Tyrp1) 및 dopa chrome tautomerase(Dct) mRNA 량이 DNCB-DM군에 비하여 증가되었다. 티로시나제는 L-tyrosine을 3,4-dihydroxy phenylalanine(L-DOPA)으로 L-DOPA를 Dopakinone으로 전환시키는 멜라닌 합성의 처음 2단계 반응을 촉매 하는 작용을 하는 멜라닌 합성을 조절하는 효소이다⁽³³⁴⁾. DNCB-DM+T군의 피부조직 Tyr 발현량이 DNCB-DM군에 비하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 5.9 로 증가되어 멜라닌 생합성 과정이 증가되어 있을 것으로 생각된다. Oca2는 멜라닌 합성 세포의 세포막에서 티로신을 세포내로 이동시키는 작용을 하는 막 단백질⁽³³⁵⁾로서 본 실험에서 DNCB-DM+T군의 피부조직 Oca2 발현량이 15.0 으로 DNCB-DM군의 피부조직의 발현량 0 에 비하여 증가되어 탄닌 투여로 멜라닌 생합성이 증가된 것으로 생각된다. Tyrp1은 멜라닌 합성과 멜라노솜(melanosome) 구조의 유지와 멜라닌 합성 세포 활성화에도 관여된 것⁽³³⁶⁾으로 알려져 있는데, 본 실험에서 DNCB-DM군의 피부조직 Tyrp1 발현량이 DNCB-DM군에 비하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 4.7 로 증가되어 탄닌 투여로 멜라닌 생합성과 세포활성이 증가되어 있을 것으로 생각된다. Dct는 멜라닌 합성과 세포활성 조절에 관여하는 것⁽³³⁷⁾으로 알려져 있는데, 본 실험에서 DNCB-DM+T군의 피부조직 Dct 발현량이 DNCB-DM군에 비하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 4.4 로 증가되어 탄닌 투여로 멜라닌 생합성과 세포활성이 증가되어 있을 것으로 생각된다.

Table 5. Select skin transcripts related to melanin biosynthetic process in tannin treated DNCB-dermatitic mice by RNA-seq analysis

Gene	Counts (average)		log2(FC)	P value	Q value
	DNCB-DM	DNCB-DM+T			
Tyr	0.3	16.5	5.9	0.0006	0.033
Oca2	0.0	15.0	Inf	0.0001	0.005
Tyrp1	6.3	159.8	4.7	0.0001	0.005
Dct	14.5	305.0	4.4	0.0001	0.005

Tyr: tyrosinase, Oca2: oculocutaneous albinism II,
Tyrap1: tyrosinase-related protein 1, Dct:
dopachrome tautomerase.

V. 결론 및 제언

탄닌이 DNCB에 인위적으로 유발시킨 접촉성 피부염 증상에서 모발성장에 어떠한 영향을 미치는지 알아보고자 하였다. 육안적인 관찰에서 DNCB-DM+T군이 Control군에 비해 피부염 증상은 있지만 DNCB-DM군보다 매우 호전됨을 확인하였고, H & E 염색에서도 DNCB-DM+T군이 DNCB-DM군 보다 정상군인 Control군에 가까운 표피와 모낭 형태를 확인하였다. 그리고 total RNA 분석을 통해 모발주기관련 유전자의 발현과 멜라닌 유전자의 변화가 Control군에 비해 전체적으로 감소되었다. 그러나 DNCB-DM+T군과 DNCB-Dm군과 비교했을 때 전체적으로 증가함을 알 수가 있었다. 따라서 모발주기관련 유전자의 발현과 멜라닌 유전자의 변화를 비교했을 때 전체적으로 증가함을 알 수가 있었다. 따라서 본 연구의 결과를 바탕으로 탄닌 투여는 접촉성 피부염의 증상 개선에 도움이 되며, 모발관련 유전자 발현 변화는 피부염으로 인해서 야기되는 모발의 주거나 성장의 장애 개선에 도움이 될 것으로 사료된다. 하지만 이런 유전자 발현의 변화가 어떠한 기전에 의해서 일어나는지에 대해서는 추후 계속적인 연구가 있어야 할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Lim JH, Park YM, Kim JS, Jeong HJ, Seo EW, Effect of Cnidium officinale Extract on Recovery Capability of Allergic Contact-Dermatitis in Rat, Korean J Plant Res, Vol.24 No 4, pp.430-437, 2011.
2. Bae YI, Standard patch test result in patients with contact dermatitis in last 5 years, Faculty of Medical Science Graduate School Chonnam National University, p.3, 2008.
3. Kim YU, A Study on the Improvement Effect of the Scalp and Hair loss on People with Alopecia, Major in Cosmetology Education Graduate School of Education Nambu University, P.13, 2014.
4. Lee KY, Kang DH, Kim HT, The Effects of Syzygium aromaticum extract Spread on the Allergic Contact Dermatitis induced by DNCB, The Journal of Korean Medical Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology, Vol. 26 No. pp.4-14, 2013.
5. Lee JC, Effects of Portulacae Herba (PH) on Allergic Contact Dermatitis (ACD) Induced by DNCB in Mice, Dept. of Oriental Medicine Graduate School of Dong shin University, p.1, 2014.
6. Ryu SH, Effects of Crataegus Pinnatifida(CP) on Allergic Contact Dermat itis(ACD) Induced by DNCB in Mice, Graduate School of Dong-Shin University Thesis for the Degree of Ph.D, p.35, 2013.
7. Kim JS, Park YM, Jeong JB, Lim JH, Jeong HJ, Seo1 EW, Effect of LES on Recovery Capability of DNCB-Induced Allergic Contact Dermatitis in Rat, Journal of Life Science, Vol. 21 No. 5, 713-719. 2011.

8. Na YR, Koo HS, Lee SJ, Kang JM, Jin SH, A Study on Contact Dermatitis-Causing Substances Concentration in Commercial Oxidative Hair-Coloring Products, J. Soc. Cosmet. Scientists Korea, Vol. 40 No. 2, 203-214. 2014.
9. Jo CH, Improvement Effects of Scalp Erythema in Women in 20~50s using Centella Asiatica Extract, Department of Cosmetology Graduate School of Engineering Konkuk University, p.1, 2015.
10. Chung JY, The Protection Effect on Hair in Accordance with the Formulation of Hair Treatment Products with Lycium Chinese Miller Extract, Department of Beauty Design Graduate School of Wonkwang University, p.3 2017.
11. Park SH, Therapeutic effects of ginsenoside F2 against contact dermatitis in murine model, Graduate School Seoul National University Thesis for the Degree of Ph.D., p.104, 2017.
12. Kim JE, Evaluation of Patch Test (TRUE Test) positive reactivity according to the reading time in patients with allergic contact dermatitis, Graduate School of Medicine, Soon chun hyang University Korea Thesis for the Degree of Master, p.2, 2012.
13. Park JM, Effectsof Rice Straw (RS) on Allergic Contact Dermatitis(ACD) in duced by DNCB in mice, Graduate School of Dong-Shin University Thesis for the Degree of Master, p.3, 2013.
14. Kim YH, Choi CY, Chun TH, The Preventive and Therapeutic Effects of Probiotics in Allergic Diseases Via Immune Modulation, J Food Hyg Saf, Vol. 31 No. 3, pp.141-152, 2016.
15. Kim HW, Ryu JH, Jo SZ, Cheon WJ, Son YH, An WG, Cho SI, Effects of Sophorae Radix on skin condition in mice with contact dermatitis

- induced by Dinitrofluorobenzene, Kor J Herbology, Vol. 28 No. 6 pp.25-29, 2013.
16. Kim YJ, The Antibacterial Property and Effect of Nettle Extract on Scalp, Department of Beauty and Cosmetic, Graduate School of Health Science, Eulji University, p.1, 2016.
 17. Cho SA, Physicochemical Properties and Antioxidant Activities of Defatted Ginseng Seed Meal and Development of Nutrition Bar, Department of Food and Nutrition The Graduate School Seoul National University, p.54, 2013.
 18. Na HM, Change of protein of wheat flour with the addition of phenolic compounds at the different baking process, Department of Food and Nutrition Graduate School Keimyung University, p.6, 2010.
 19. Lee NH, Antioxidant effect and quality characteristics of white bread prepared with *Stachys sieboldii* Miq., Department of Food and Nutrition Graduate School of GaChon University, p.6, 2010.
 20. 조일석, 야생녹차추출물을 이용한 기능성화장품 소재 개발에 대한 연구, 경상대학교 산업대학원 석사학위논문, p.2, 2010.
 21. Yang GW, Study on the mitigation and improvement of Atopic Dermatitis by the multi layer fabric structure of ceramide containing fibers, Department of Applied Organic Materials Engineering, A THESIS Submitted to the faculty of Inha University, p.31, 2017.
 22. Lee HE, Evaluation of patch test (TRUE Test) positivity reactivity according to the reading time in patients with allergic contact dermatitis, p.2, 2013.
 23. Kim BA, Jae CY, Chan IP, Effect of Hwangryunhadok-tang Extracts on DNCB-induced Allergic Contact Dermatitis, Kor J Herbology, Vol. 24

- No. 2, pp.1-5, 2009.
24. Oh DK, Anti-inflammatory Effects of Aroma Oil Complex on DNCB-Induced Allergic Contact Dermatitis in Dogs, Department of Veterinary Medicine Graduate School, Kyungpook National University Daegu, Korea, p.49, 2010.
 25. Eom YJ, Effects of Capsosiphon fulvescens Extract on Contact Dermatitis in NC/Nga Mice, Dept. of Korean Medicine Graduate School of Sangji University Wonju, Republic of Korea, p.1, 2017.
 26. Kim HJ, Study of Mechanism of Skin Sensitization Induced by Para - Phenylenediamine, Department of Public Health Graduate School Keimyung University, p.2, 2009.
 27. Kim YK, Role of IL-10 in the trimellitic anhydride-induced contact dermatitis, Department of Medical Science, Chonbuk National University Graduate School, p.4, 2011.
 28. Cho YM, Effects of Contact Dermatitis due to the Workload and the Allergic Tendency of Hair stylists', Department of Beauty Science Graduate School of Kwangju Women's University, p.14, 2015.
 29. Yoon MS, Effects of Walnut Extracts on Histopathological Change on Atopic Dermatitis in Mice Induced by DNCB, J Kor Soc Cosm, Vol. 17, No. 1, pp.17-24, 2011.
 30. Lim HJ, A Study on Nutrient Intakes and Dietary Intake Patterns in Children with Atopic Dermatitis, Department of Food and Nutrition Graduate school, Myongji University, p.iv, 2011.
 31. Choi JE, Effects of Atopic Dermatitis on Parenting and Mental Health of Mothers and Infants, Department of Rehabilitation Graduate School of Hanshin University, p.1, 2014.

32. Yi YJ, Hyun SJ, Lee JH, An JY, Severity of Atopic Dermatitis and Associated Factors in Korean Adolescents by Sex, J Korean Soc Sch Health Vol. 30 No. 2, 164-173, 2017.
33. Nahm KW, The effect of KAJA on Atopic dermatitis (AD) in mouse model induced by DNCB, Department of Science in Korean Medicine Graduate school of Kyung Hee University Seoul, Korea, p.1, 2016.
34. Cho IY, Park SK, Mind-body Intervention for Treating Atopic Dermatitis, The Journal of the Korea Contents Association, Vol. 11 No. 11, pp.242-250, 2008.
35. Chung KA, Cheong MJ, Effects of Lespedeza Caneata (LC) Extracts on Atopic Dermatis in DNCB-Induced Mice, Journal of the Korea Convergence Society Vol. 7. No. 4, pp.67-73, 2016.
36. Kim YJ, Kang SC, Nam koong S, Choung MG, Sohn EH, Anti-inflammatory Effects by Arctium lappa L. Root Extracts through the Regulation of ICAM-1 and Nitric Oxide, Korean journal of plant resources, Vol. 25 No. 1, pp.1-6, 2012.
37. Lee SH, Therapeutic Effects of Tyndalized Lactobacillus rhamnosus IDCC 3201 on Chronic Atopic Dermatitis Induced by House Dust Mite, Department of Biological Engineering Graduate Schol of Konkuk Universit, p.1, 2017.
38. Yoon MH, Contents of Minerals in Hairs from Children with Atopic Dermatitis, Major of Beauty Therapy The Graduate School of Alternative Medicine Kyonggi University, p.7, 2016.
39. Cho JH, The Effects of Yukmijihwang-tang on Atopic Dermatitis of NC/Nga Mouse, Dept. of Oriental Medicine Graduate School,

Kyunghee University Seoul Korea, p.1, 2009.

40. 문승희, DNCB로 유도된 아토피피부염 마우스 모델에서 자운고 선·후 도포 군에 따른 효능 비교 연구, 경희대학교 대학원 박사학위논문, pp.1-2, 2017.
41. Son CG, Pattern of Treatment Choice for Atopic Dermatitis by Child's Parents, The Journal of Korean Medical Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology, Vol. 27 No. 1, pp.37-44, 2014.
42. Cho JM, Hong EJ, Seo HS, Reviewing Research on Laser Therapy of Atopic Dermatitis, The Journal of Korean Medical Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology, Vol. 26 No. 1, pp. 82-96, 2013,
43. Lee YJ, A comparative study on high frequency instrument treatment and mud treatment to improve atopic dermatitis, Department of Medical Beauty Graduate School of Konyang University Nonsan Chungnam Korea, p.16, 2015.
44. Ryu DH, Oh Sa Rang, Jung Tae Sung, Ryu Deok Seon, The Effect of Angelica gigas Nakai Extract and Bacillus Polyfermenticus KJS-2 on Atopic Dermatitis induced by DNCB in mice, J Korean Med, Vol. 38 No. 3, 2017.
45. Kwak MS, Ameliorating Effect of the Extract of Fruits of Viburnum sargentii Koehne on Atopic Dermatitis, Dept. of Korean Medicine Graduate School of Wonkwang University, p.2, 2016.
46. Lee GS, Jung HM, Oh SK, Cheong JH, Kang TJ, Effects of Herbal Complex on Atopic Dermatitis in BALB/c Mice, Kor J Pharmacogn, Vol. 43 No. 1, pp.59-65, 2012.
47. Lee JH, A Study on the Sensitivity Scalp Health of Tea tree oil, Major in Cosmetology & Cosmetic Beauty, Department of Food and Drug Administration, Graduate School of Food & Drug Administration

- Chung-Ang University, p.2, 2009.
48. Yang YD, Analysis of Human Hair Dyed and Colorfastness of Hot Water Extract from Cherry, Department of Education Graduate of Kwangju Women's University, p.iv, 2013.
 49. Kim OK, The Study of the Clinical Characteristics of Patients with Maturity Onset Atopic Dermatitis and the Consequent Depression, Anxiety, Quality of life, Major in Skin care and Obesity Management Dept. of Cultural industry Graduate School of Cultural industry Sungshin Women's University, p.10, 2008.
 50. Cha YL, The Effects of Chamaecyparis obtusa extracts on the skin change in a child's atopy, Dept. of Beauty Arts The Graduate School of SeoKyeong University, p.3, 2012.
 51. 이상운, 아토피피부염과 환경유발요인간의 상관관계에 관한 연구, 한양대학교 대학원 석사학위논문, p.2, 2009.
 52. Kim YM, Lee YM, The Outbreaks, Treatment and Lifestyle in Children with Atopic Dermatitis, J Korean Biol Nurs Sci, Vol. 11 No. 1, pp.77-84, 2009.
 53. Ko HH, A Perception and Experience of Alopecia in Undergraduate Students, Major of Beauty Therapy The Graduate School of Alternative Medicine Kyonggi University, p.4, 2016.
 54. 김태원, 두피·탈모 관리센터의 소비자 로열티 향상을 위한 서비스 스케이프 관리전략 연구, 상명대학교 대학원 석사학위논문, p.1, 2016.
 55. Jung DM, A Study of Correlation between Disease Incidence and Books on Disease Treatment and Prevention in Korea, p.70, 2015.
 56. Woo JA, Effects of Scalp and Skin Characteristics on Male hair loss, Department of Cosmetology Graduate school of Engineering, Konkuk

University, p.1, 2017.

57. Kim YC, Lee SH, Gang SR, Hyung SH, Oh JY, Change of Enzyme Activities and Gene Expression in Accordance with Hair Growth in C57BL/6 Mice, J Kor Soc Cosm, Vol. 14 No. 2, pp.326-336, 2008.
58. Gu EJ, Ananalysis of influence factor of adults using self diagnosis about hair loss and stress, Dept. of Cosmetology, Nambu University, p.14. 2012.
59. Cho S, A Study on Hair Loss in IT Duty Environments Against The Job Stress of Financial institutions Employees, Department of Digital Management and Information Graduate School of Nambu University, p.2, 2016.
60. 임경민, 사삼이 DNCB로 유발된 생쥐의 아토피 피부염에 미치는 영향, 동신대학교 대학원 석사학위논문, p.1, 2016.
61. Min DJ, Park NH, Hwang JS, Moon SH, Lee KH, Lee JH, Ahn SM, Kim HK, Low-temperature Rendering Technology Applied to Extract Black Beans, Peony and Green Tea for Scalp Repair. J Soc Cosmet Scientists Korea, Vol. 35 No. 1, pp.41-46, 2009.
62. Kim NH, A study on the antimicrobial activities and demodex entinction of Camellia japonica L. leaves, Major in Cosmetology Education Graduate School of Education Nambu University, 2014.
63. Jung MH, The effect of glycosaminoglycan containing extract from styela plicata on scalf improvenet and hair restorer, Dept. of beauty Arts The Graduate School Seokyeong University, 2011.
64. Lee MH, Effect of hair dyeing and scalp toner containing Stichopus Japonicus extract on the hair loss, Major in Cosmetic Biology Departmaent of Microbial Engineering Graduate School of

- Knokuk University, pp.5-6, 2016.
65. Kim JH, Yi SM, Choi JE, Son SW, Study of the Efficacy of Korean Red Ginseng in the Treatment of Androgenic Alopecia, J Ginseng Res, Vol. 33 No. 3, 2009.
 66. Seo GH, Efficacy evaluation of four herbal extracts using liposomal formulation on preventing androgenic alopecia, Master's Program in Department of Microbial Engineering Graduate School of Konkuk University, 2008.
 67. Kim MH, Young CK, The Promoting Effect of Rosemary Oil on Hair Growth by Gross and Histological Observation in C57BL/6 Mice, The Journal of Cosmetological Science, Vol. 6 No. 2, 2010.
 68. Lee EK, Effect of Crataegus pinnatifida Extracts on Hair Growth of C57BL/6 Mice, Department Oriental Medicinal Materials & Processing Graduate School Kyung Hee University, Suwon, Korea, 2009.
 69. An GS, Hwang IC, Hair Loss Prevention and Hair Growth Promotion by Herb Extracts which contain the Cultured Korean Wild Ginseng, Journal of the Korea Soc Beauty and Art, Vol. 10, No. 4, 2009.
 70. Noh YH, Lee SY, Kim SG, Lee JH, Jeong SY, Choi KE, J Kor Soc Cosm, Vol. 18, No. 2, 2012.
 71. Lee SY, Choi EJ, Bae DH, Lee DW, Kim SO, Effects of 1-tetradecanol and β -sitosterol Isolated from Dendropanax morbifera Lev. on Skin Whitening, Moisturizing and Preventing Hair Loss, J Soc Cosmet Sci Koreae, Vol. 41, No. 1, 2015.
 72. Kim YS, Lee HJ, Pack JE, Kim JH, HAIR loss treatment effect and stem cell activator role of Yeast Constituent Extract, Journal of The Korean Society of Industrial Application, Vol. 17, No. 3, 2014.

73. Kim YY, Effects of Topical Application of EGCG on Testosterone-Induced Hair Loss in Mice, Graduate School The Catholic University Of Korea Seoul, Korea, 2011.
74. Joo HH, The Relationship between the antioxidation activity and the promotion of hair growth of the Allium cepa extracts, Department of Beauty and Cosmetic Graduate School of Industry Chosun University, 2009.
75. Jeong IK, Jo HY, Kim TH, Kim NS, Jeong HS, Lee CH, Experimental Studies on the Hair Growth Activity of Extracts of Pinelliae Rhizoma in Spontaneous Alopecia Model and Normal C57BL/6N Mice, Korean J Oriental Physiology & Pathology, Vol. 23 No. 1, 2009.
76. Ryu EM, Shin HJ, Hair growth effect of ethyl acetate and water fractions of Sparassis crispa extracts on hair-removed C57BL/6 mice, Asian J Beauty Cosmetol, Vol. 9 No, 2011.
77. Ryu EM, Effect of Wheat Sprout Extracts on Hair Growth, Dept. of Chemical Engineering(Major:Cosmetic Engineering) Graduate School of Chosun University, pp.14, 97, 2014.
78. Hwang CW, Hwang JW, Kim ST, The Effect of Hair Growth and Distribution by Sophorae Radix, Panax ginseng, Salvia miltiorrhiza BUNGE Water Extracts, J Soc Cosmet Scientists Korea, Vol. 36, No. 3, 2010.
79. Shin HS, Park SY, Lee WC, Shin JH, Yi TH, Effect of Selenarctos thibetanus(bear oil) on Hair Growth Promotion in C57BL/6 Mice, Journal of Investigative Cosmetology, Vol. 7 No. 3, 2011.
80. Kim YJ, Kim TK, Min BH, Kim SJ, The Effect of LhGH on Hair Regeneration in C57BL/6CrN Mouse, Korean J Microscopy Vol. 41 No. 1,

2011.

81. Jung JE, Cho EJ, Protective Effects of Zizyphus jujuba and Fermented Zizyphus jujuba from Free Radicals and Hair Loss, J Korean Soc Food Sci Nutr, Vol. 43, No. 8, 2014.
82. Zhang YL, Hair Growth Promotion and Molecular Regulation of Salvia plebeia Extract on Human Dermal Papilla Cells and C57BL/6 Mouse Model, Major in Nutrition Science Department of Food and Nutrition The Graduate School of Chung-Ang University, 2018.
83. Kim MJ, The Antioxidative Evaluation and Hair Growth Effect of Samhwang-Sasintang, Department of Public Health Graduate School Keimyung University, 2012.
84. Park GH, Kim YU, Hair Growth-promoting Effect of Resina Pini and Its Main Constituent, Abietic Acid, in Mouse Model of Alopecia, J Soc Cosmet Sci Koreae, Vol. 42, No. 3, 2016.
85. Ju BH, Effects of Ganoderma lucidum extract ethanol extract and microneedle therapy system on Hair Growth in an Alopecia Model of C57BL/6N Mice, Department of Oriental Medicine, Graduate School, Dongeui University, 2014.
86. Ko HL, The Influence in the Mixture of Fermented Liquid in Arctium lappa L. Rot and D endropanax morbifera Lev. Leaf on Hair Growth of C57BL/6 mice, Department of Beauty and Cosmetic Graduate Schol of Industry Chosun University, 2017.
87. Jeon HY, Kim SH, Shin HJ, Seo DB, Lee SJ, Synergistic Effects of the Combination of Oral Herbal Composition and Topical Hair Tonic on Hair Growth in C57BL6 Mice, Korean J Food Sci Technol, Vol. 44 No. 2, 2012.

88. Kang BG, Effect of ethanol extract of plant mixture on hair regeneration in human dermal papilla cells and C57BL/6J mice, Department of Food Science & Nutrition Graduate School, Hallym University, 2015.
89. Han AR, Study on Effect of Saengbaleum-II(Shēngfà-yǐn-II) on Hair Regrowth Promotion in C57BL/6 Mice, Dept. of Oriental Medicine Graduate School Kyunghee University, Seoul, Korea, 2009.
90. Hong JA, Song MY, Choi IH, Sohn NW, Chung SH, Effect of Yikgebohyul-tang (Yiqibǔxuè-tāng) on Hair Regrowth and Cytokine Changes on Hair-Removed C57BL/6 Mice, J Korean Oriental Med, Vol. 31 No. 1, 2010.
91. Park DS, Lee JS, Lee JH, Study of the Clinical Efficacy on Hair-growth Effect of Leaves Extracts of Thuja orientalis L., Journal of the Korea Soc Beauty and Art, Vol. 13 No. 4, 2012.
92. Lee KM, Lee JS, Oh JY, Kim YC, The Hair Growth Effect of Polygoni multiflori Radix Water Extracts in C57BL/6 Mice, The Journal of Cosmetological Science, Vol. 6 No. 4, 2010.
93. Park YM, Han JS, A Study on the Utilization of Dendropanax morbifera Lev. Leaf Extract for Material of Functional Cosmetics and Hair Growth Products, Asian J Beauty Cosmetol, Vol. 14 No. 3, 2016.
94. Do EJ, Hwang MY, Kim SY, Lee JS, Yang DS, Yang CH, Kim MR. The effect of Gyungokgo-gamibang extract on hair growth and protein expression in mice, Kor J Herbology, Vol. 26 NO. 4, 2011.
95. Kim JD, Inhibitory effect of herbal extracts on skin wrinkle induced by UVB irradiation in hairless mice, chungbuk National

University, 2012.

96. Pyo MK, Hong SC, Jung JT, Jo YH, Lee KM, Anti-Oxidant and Hair-Growth-Promoting Effect of Pectin Lyase-Modified Red Ginseng Extract(GS-E3D), Kor J Pharmacognosy, Vol. 48 NO. 3, 2017.
97. Hyun MY, Suk JM, Jung SW, Park JO, Kim BH, Jang JD, Joe GJ, Yeo IK, Kim BJ, Kim MN, The Efficacy of Shampoo Containing Ginseng Radix on Preventing Hair Loss and Promotion Hair Growth, J Soc Cosmet Scientists Korea, Vol. 39 No. 3, 2013.
98. Ju BH, Yu SA, Kang KH, Lee SY, Effects of Ganoderma Lucidum Extract Ethanol Extract and Microneedle Therapy System on Hair Growth in an Alopecia Model of C57BL/6N Mice, J Pediatr Korean Med May, Vol. 28 No. 2, pp.72-87, 2014.
99. Han KS, Analysis of Korean & Chinese Medicinal Herbal Prescriptions for Hair Growth and Nutrition, Department of oriental medicine Industry graduate School Daegu Haany University Gyeongbuk, Korea, p.1, 2015.
100. Kim SH, A study on the usability of ginger essential oil shampoo for improvement of scalp and hair conditions, Dept. Food & Nutrition The Graduate School Hanyang University, p.3, 2013.
101. Park DH, A Study on an Improvement in Scalp and Damaged Hair By Use of the Mixture of Bentonite and A Permanent Wave Product, Dep. of Beauty Arts The Graduate Schol of Seokyung University, p.12, 2013.
102. Hong CH, The Effect of Surfactant Types of Shampoo on Changes in the Moisture and Sebum of the Scalp, Department of Cosmetology Graduate School of Engineering Konkuk University, p.4,

- 2013.
103. Joo MW, Dandruff care and shampoo practicing behavior of the female college students and the hindrance effect of essential oil on the growth of scalp microorganisms, Major in Esthetic Department of Beauty Art The Graduate School of Seokyeong University, P.1, 2011.
 104. Bak AY, The Antibiosis of Garlic Extracts its Effect on Scalp Health, Major in Skin Care and Obesity Management Dept. of Cultural Industry Graduate School of Cultural Industry Sungshin Women's University, p.1, 2011.
 105. Kim JH, The effect of Coptidis rhizoma, Chinese Galls and Phytoncide in Malassezia furfur, Changwon National University, p.1, 2013.
 106. Kim DY, A Study on Consumer Awareness and Satisfaction of Hair Clinic Products, Major in Cosmetology Education Graduate School of Education Nambu University, p.1, 2013.
 107. Mun YS, Research on the scalp based on the age and the type of hair care, Major in cosmetic & Beauty Graduate School of Distance Learning Sookmyung Women's University, p.9, 2009.
 108. Kim KH, The effect of SaingHeylYunBooEmGami-Bang on the alopecia and hair growth, Dept. of Korean Medicine Graduate School of Daejeon University, p.1, 2016.
 109. Hong HN, The satisfaction study on the hair and scalp damage recognition and management attitude by the particular matter DongDuk Wonmens University, p.19, 2016.
 110. Ryu SH, The Effect of Hyaluronic Acid's on Physical Changing of Damaged Hair, Master of Cosmetology Graduate School of Engineering,

- Konkuk University, p.2, 2008.
111. Song HS, Effect of Phellinus linteus in germinated brown rice on the hair growth, Ph.D. Program in Department of Applied Biochemistry Graduate School of Konkuk University, p.4, 2011.
 112. Park HY, Effects of Scalp-care, Hair-care and Life Style on the air-loss among College Students, Department of Health Science The Graduate School of Health Science, Catholic University of Daegu, p.2, 2007.
 113. Choi YK, Lee SH, A Morphological and Chemical Variation of Hair Treated by Deep Ocean Water, Journal of the Korean Society of Urban Environment, Vol. 15 No. 2, pp.101-108, 2015.
 114. Choi EJ, Kang SM, General Characteristics of Korean Hair and Western Hair, J Kor Soc Cosm, Vol. 19 No. 1, pp.159-170, 2013.
 115. Jeon JA, A Study on Perception and State of Scalp & Hair Care among College Students in Beauty-Related Departments, Major in Cosmetic & Beauty Graduate School of Distance Learning Sookmyung Women's University, p.14, 2008.
 116. Kim JY, Effects of Sinseon-yukzahwan on the hair growth in C57BL/6 mice, Department of culture and Fine Arts, Graduate School of Dongguk University Seoul, Korea, p.4, 2016.
 117. Kim JK, A study on the degree of 20-30s' utilization and customer satisfaction of the scalp and hair clinics - Focused on the Male Salaried Employees lived in Seoul City, Graduate School of Joong-Bu University Major of Cosmetology Department of Theater and Film, p.4, 2011.
 118. Kim PK, A Study on factors influencing the development of

- product for scalp and hair loss treatment - Based on consumer's recognition and purchase behavior -, Major in Cosmetic and Beauty Graduate School of Distance Learning Sookmyung Women's University, p.7, 2010.
119. Kim KS, Chang Byung Soo, Comparative Analysis of Element Components of Neonatal and Maternal Hair, J Invest Cosmetol Vol. 13 No. 1, pp.37-41, 2017.
 120. Kim DH, The Effect of pH Balance on Chemically Treated Hair, Department of Beauty and Cosmetic Graduate School of Industry, Chosun University, p.3, 2008.
 121. Kim HJ, The study of effective oxygenated water when Pre-pigmentation is done to severely Damaged Hair, Department of Health Science The Graduate School of Health Science, Catholic University of Daegu, p.1, 2008.
 122. Lee BS, Study on the Understanding and Attitudes concerning the Scalp and Hair, Major in Cosmetic & Beauty Graduate School of Distance Learning Sookmyung Women's University, p.10, 2009.
 123. Shin BS, A study on the hair growth promoting effect of pine-needle extract, Dept, of Clothing Graduate School Sungshin Women's University, p.12, 2014.
 124. Kim JM, The Antioxidative evaluation and Hair Growth Effect of Damsam-Samultang, Department of Public Health Graduate School Keimyung University, p.2, 2010.
 125. Cho YJ, A Study on Awareness and Use of Hairdye among Hairdressers, Major in Cosmetic and Beauty Graduate School of Distance Learning Sookmyung Women's University, p.7, 2013.

126. Kim JI, A Study on the State of Scalp & Hair Care, Major in Cosmetic & Beauty Graduate School of Distance Learning Sookmyung Women's University, p.6, 2008.
127. Kim KS, Activation Effects analysis of Ellagic Acid on Human Dermal Papilla Cells, Department of Bioengineering Graduate School of Konkuk University, p.1, 2015.
128. Kang HJ, A Study on the Utilization Realities and Satisfaction with Scalp & Hair Care Center, Major in Cosmetic and Beauty Graduate School of Distance Learning Sookmyung Women's University, p.7, 2011.
129. Kim EH, A Study of Effects and Satisfactions on Hair and Scalp Management, Department of Beauty Art Graduate school of Beauty Art Youngsan University, pp.6-7, 2013.
130. Kim JH, Analysis of Factors Related to Hair Mineral Contents and Physical Properties among Korean Female Adults, Department of Food & Nutrition The Graduate School of Sungshin Women's University, p.9, 2013.
131. 변화정, 여대생의 두피·모발상태와 관련된 요인 분석, 성신여자대학교 문화산업대학원 석사학위논문, p.5, 2010.
132. Kim HJ, A Study on the Cause of Hair Damage and the State of Hair Care, Major in Cosmetic & Beauty Graduate School of Distance Learning Sookmyung Women's University, p.6, 2011.
133. Lee BS, Study on the Understanding and Attitudes concerning the Scalp and Hair, Major in Cosmetic & Beauty Graduate School of Distance Learning Sookmyung Women's University, p.11, 2009.

134. Kim MS, A Study of Effect of Camellia Japonica Extracton Improvement of Hair Damage and Its Retaining Effects, Department of Cosmetology Graduate School Nambu University, p.3, 2013.
135. Kim JH, Lee OS, Han JS, Shin SY, Baek DH, Ha BJ, Morphological Changes of Hair Structure by UV Irradiation, J Soc Cosmet Scientists Korea, Vol. 34 No. 4, pp.311-316, 2008.
136. Cho YS, The Influence of Pine Nut Oil, Treatment on Hair, Department of Cosmetology Grduate School of Engineering, Konkuk University, p.7, 2016.
137. 박선자, 화학 탈색과 천연 헤나 염색이 모발 강도에 미치는 영향에 관한 연구, 창원대학교 보건대학원 석사학위논문, p.5, 2017.
138. Choi BR, Inspection of Natural Extracts Affecting Hair Growth Control, Department of Immunology Graduate School, Kyungpook National University Daegu, Korea, p.1, 2008.
139. Lee YM, A Study on the Influence of Adenophora Radix Extract on Hair Growing, Department of Food & Nutrition The Graduate School of Sungshin Women's University, p.8, 2008.
140. Kim SH, A Study on the Middle-aged Men's Hair Thickness Change by Scalp Acupuncture Point Massage, Department of Integrative medicine Graduate school Sun Moon University, p.14, 2012.
141. Kang NR, Yoon HJ, Ko WS, Effects of Microneedle Therapy System(MTS) and Hwangryeonhaedoktang Pharmacopuncture Solution on Hair Growth in an Alopecia Model of C57BL/6N Mouse, Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol, Vol. 29 No. 1, pp.47-64, 2016.

142. Kim MH, Rosemary Oil Promotes Hair Growth in C57BL/6 Mice, Department of Public Health Graduate School Keimyung University, p.2, 2008.
143. Jung MJ, Effects of Coicis Semen Water Extract on Hair Growth in Alopecia Models, Department of Korean Medicine, Graduate School Dongeui University, p.1, 2017.
144. Ryu EM, Effect of Sparassis crispa extracts on hair growth and inhibition of hair-removed C57BL/6 mice, Department of Beauty and Cosmetic Graduate School of Industry Chosun University, p.10, 2010.
145. Kim MJ, The Antioxidative Evaluation and Hair Growth Effect of Samhwang-Sasimtang, Department of Public Health Graduate School Keimyung, p.1, 2013.
146. Kim JK, A study on the degree of 20-30s' utilization and customer satisfaction of the scalp and hair clinics -Focused on the Male Salaried Employees lived in Seoul City-, Graduate School of Joong-Bu University, Major of Cosmetology Department of Theater and Film, p.4, 2011.
147. Lee KM, Promotion Effect of Polygoni multiflori Radix Water Extracts on Hair Growth in C57BL/6Mice, Department of Public Health Graduate School Keimyung University, p.1, 2009.
148. Yang HY, Effect of Solvent in Human Hair Dyeing With Natural Dye Cochineal, Interdisciplinary Program of Perfume and Cosmetics, Graduate School, Chonnam National University, p.1, 2009.
149. Oh JY, Hair Growth Promotion and Antibacterial Activity against Pityrosporum ovale of Peppermint Oiln, Department of Public Health Graduate School Keimyung University, p.1, 2007.

150. Kim HJ, A Study on the Cause of Hair Damage and the State of Hair Care, Major in Cosmetic & Beauty Graduate School of Distance Learning Sookmyung Women's University, p.5, 2011.
151. Ryu EJ, Oh GS, Morphological Comparison of Alopecia Patients' Hair by Stress, Journal of the Korean Society of Design Culture, Vol. 18 No. 2, pp.89-100, 2012.
152. Kim DP, Classification of Hair Damage Grade by Observation of Physicochemical Properties and Morphological Change, Dept. of Beauty Design Graduate School of Wonkwang University, p.2, 2010.
153. Na EJ, The Study of Scalp Treatment Methods On Seborrheic Dermatitis, Major in Cosmetology Graduate School of Food and Drug Administration Chung-Ang University, p.1, 2007.
154. Lee GR, A Study on Awareness and State of Scalp & Hair Care: the case of Gangweon and north Chung cheong province, Major in Cosmetics & Beauty Graduate School of Distance Learning Sookmyung Women's University, p.11, 2008.
155. Jeong IS, Development and effects of Intervention Program for Health Promotion Behavior of Scalp and Hair based on a stage of Change-Applying Transtheoretical Model-, Department of Clothing and Textiles, Graduate School Chungnam National University Daejeon, Korea, p.19, 2015.
156. Lee JY, The Improvement Effect of Shampoo with Arctii fructus Extracts on Scalp and Hair, Department of Cosmetology Graduate School of Engineering Konkuk University, p.5, 2015.
157. Seo SO, The effect of scalp tonic and MTS on scalp·hair condition, Dept. of Beauty Art Graduate School of Social Education Sookmyung

- Women's University, pp.4-5, 2012.
158. Jun GO, A Study on Influence Relation in Perception of Damage in Scalp · Hair, Attitude towards Hair Care and Performance of Hair Care, Dept. of Beauty Arts The Graduate School of Seokyeong University, p.4, 2017.
 159. Lee YH, The Effect of Scalp Solution for Scalp Hair Condition in Young Women, Major in Beauty Therapy Graduate School Alternative Medicine Kyunggi University, p.4, 2011.
 160. Yoon SY, Research on Customer Conditions and their Satisfactory Level in Relevance to Different Hair Treatment Facilities (Focusing on Daejeon), Department of Medical Beauty, The Graduate School Konyang University ChungNam NonSan Korea, p.7, 2009.
 161. Lee EJ, A Study on the Recognition and Care Actions for Losing Hair by the Hair-losing Middle-Aged Men, Department of Cosmetic Beauty Graduate School of Social Culture Hannam University, p.5 2009.
 162. Lee HK, The research about facilities of hair and scalp depending on types, Konyang University Department of Medical Beauty Department of Medical Beauty, p.10, 2010.
 163. Park YA, Study of the utilization of hair products with a scalp and hair condition, Major in Educational Beauty Honam university graduate school of education, p.6, 2011.
 164. Lee MJ, Comparative study of daily habits, scalp, hair and skin care effects on their conditions. (Focusing on Korean and American high school girls), Department of Medical Beauty Konyang University ChungNam NonSan Korea, p.12, 2010.
 165. Cho SI, Comparative analysis of scalp type between, Alopecia and

- Non-alopecia, Cosmetics and Beauty Care The Graduate School of Public Health Changwon National University Changwon, Korea, p.10, 2014.
166. Kim JK, A study on the degree of 20-30s' utilization and customer satisfaction of the scalp and hair clinics - Focused on the Male Salaried Employees lived in Seoul City, Graduate School of Joong-Bu University Major of Cosmetology Department of Theater and Film, p.4, 2011.
 167. Kim SK, A Study on Franchise Beauty Shop Worker's Avoidance Factors of Scalp Care Customers and the Status, Dept. of beauty arts Graduate School of SeoKyung University, p.11, 2009.
 168. Seo SS, The effect of service quality on customer satisfaction and revisit intention, Dept. of Beauty Industrial Management Graduate School of Business Administration Yong-in University, p.9, 2008.
 169. Park DS, Analyzes on the Recognition and Important Factors about Hair Salon Scalp and Hair Loss Management of Adult Women, p.9, 2013.
 170. Jang JY, A Study on the Perception and Attitude on Scalp and Hair of Some College Students in Jeonnam, Beauty and Cosmetics, Graduate School of Dongshin University, p.7, 2012.
 171. Shin ON, A Study on the Actual Condition and Treatment of Scalp and Hair in the Women, Major in Hair Design Dept. of Beauty Art & Design Graduate School of Arts Hansung University, p.6, 2010.
 172. Kim JH, A study examines satisfaction according to scalp & hair care center usage conditions and product purchase attributes, Skin Care and Obesity Management Major Graduate School of Lifetime Welfare

Sung-Shin University, p.5, 2013.

173. Jeon YG, An Influence on the Scalp and Hair Condition by the Management using AMTS and Micron Therapy System, The Department of Health and Welfare, Skincare and Obesity Management Major Graduate School of Life Welfare Sungshin Women's University, pp.7-8, 2014.
174. Lee HJ, The effect of scalp scaling using sun-dried salt on the scalp condition after hair dying, Department of Cosmetic Design Beauty Graduate School of Culture and art Dongguk University, p.6, 2016.
175. Lee JM, The Effect of the Seborrheic Scalp Enhancer on Changes in the Sebum and Moisture of the Scalp, Department of Cosmetology Graduate School of Engineering Konkuk University, p.22, 2013.
176. Park JY, A Study on the Factors Affecting Alopecia of Women in Middle age, Department of Beauty & Public Health Directed by Prof. Chang-Gok Chang, p.17, 2013.
177. Lee EJ, A Study on the Recognition and Care Actions for Losing Hair by the Hair-losing Middle-Aged Men, Department of Cosmetic Beauty Graduate School of Social Culture Hannam University, p, 8, 2009.
178. 추미건, 홈 케어 두피스케일링 관리가 성인여성의 두피 모발 건강에 미치는 영향, 광운대학교 정보콘텐츠대학원 석사학위 청구논문, p.12, 2016.
179. Seo SO, The effect of scalp tonic and MTS on scalp·hair condition, Dept. of Beauty Art Graduate School of Social Education Sookmyung Women's University, pp.4-5, 2012.
180. Ok GM, Effect of Electronic Wave Therapy to the Middle-aged women's Scalp Health, Department of Esthetic Graduate School of Beauty

- Art Youngsan University, p.28, 2014.
181. Lee JS, A survey of the status of hair loss product use, hair loss treatment and satisfaction level, Dep. of Beauty art Graduate school. Graduate school Seokyeong University, seoul, Korea, p.4, 2007.
 182. Kim YH, Research on the Impact Factors of Hair Loss in Reference to Boy Students in Middle and High School, Department of Public Health Graduate School of Public Health, Daegu Haany University Gyeongbuk, Korea, p.10, 2014.
 183. 김미정, 헤드스파테라피를 적용한 직장 남성탈모자의 샴푸사용에 따른 두피변화, 광운대학교 정보콘텐츠대학원 석사학위논문, p.7, 2015.
 184. Jung HN, A Study on the Characteristics of Hair-Losers and Factors Causing Hair Loss, Major in Cosmetology Education Graduate School of Education Nambu University, p.2, 2012.
 185. Kim JW, Study on the ingredients of oriental medicine shampoo for hair loss prevention, Department of Education Graduate School of Kwangju Women's University, p.4, 2015.
 186. Kim SM, Study on reinforcing brand competitiveness of scalp and hair loss for salon professionals, Major in Cosmetic and Beauty Graduate School of Distance Learning Sookmyung Women's University, P.16, 2007.
 187. Kim JW, Study on the ingredients of oriental medicine shampoo for hair loss prevention, Department of Education Graduate School of Kwangju Women's University, p.5, 2015.
 188. Kim MG, The Effect of Scalp Care on Improvement of Alopecia and Stress in Menopausal Women :Focused on Scalp Care Using Mts, Department of Beauty Care, The Graduate School of Welfare and

- Industry Tongmyong University, p.13, 2015.
189. Kim DH, The influence of social impression formation based on the experience of hair loss on the interpersonal anxiety and state anxiety, Dept. of Beauty Arts The Graduate School of SeoKyeong University, p.7, 2011.
 190. Ban SW, The Effect of Improvement to Scalp of the Scalp Management with Micro-needle Therapy System, Major in Hair Design, Dept. of Beauty Art & Design Graduate School of Arts Hansung University, p.12, 2013.
 191. Kwon DS, A Study on Prevalence of Demodex Infestation in Korean Adult Scalp and Killing Effect of Various Natural Products(Plant Extracts), Department of Health Management The Graduate School, Hanyang University, p.2, 2007.
 192. Han JS, A Study on the Relationship between Hair Loss and Scalp Types and the Status of Demodex Infection, Major in Cosmetology science Graduate School of Industrial Policy Studies, Nambu University, p.2, 2006.
 193. Chung JR, Improvement Effects of Folliculitis using Eclipta prostrata L., Kor J Aesthet Cosmetol, Vol. 11 No. 1, pp.167-171, 2013.
 194. Yon YI, Chung MY, Hwang JS, Go TW, Ahn MY, Lee YB, Han MS, Yun EY, Anti-inflammatory Effect of Oxya chinensis sinuosa Ethanol Extract in LPS-induced RAW 264.7Cells, Journal of Life Science, Vol. 24 No. 4. pp.370-376, 2014.
 195. Lee NJ, Cho HB, The Latest Patent Trends in Korea with Related to the Health of Hair, Kor J Aesthet Cosmetol, Vol. 12 No. 1, pp.133-138, 2014.

196. 최순옥, 에센셜 오일을 이용한 두피 마사지가 탈모 직장인들의 스트레스에 미치는 효과, 한남대학교 사회문화대학원 석사학위논문, pp.18-19, 2012.
197. Seo SO, Chang MS, The Effect of Scalp Tonic and MTS on Scalp·Hair Condition, Kor J aesthet Cosmetol, Vol. 10 No. 4, pp.863-878, 2012.
198. Ko HL, The Influence in the Mixture of Fermented Liquid in *Arctium lappa* L. Root and *D endropanax morbifera* Lev. Leaf on Hair Growth of C57BL/6 mice, Department of Beauty and Cosmetic Graduate School of Industry Chosun University, p.14, 2017.
199. Park SH, A survey of satisfaction on hair loss treatment: a comparison of hair transplant, Cosmetics and Beauty care The Graduate School of Public Health Changwon National University Changwon, Korea, p.6, 2014.
200. Jung H, Protective Effects on Dermal Papilla Cell of *Ophiopogon Japonicus* Root Polysaccharide and Its Application to Hair Loss Prevention Product, Department of Health Science Majored in Cosmetic & Beauty Science, Graduate School, Eulji University, p.10, 2017.
201. Kim JH, the Preclinical and Clinical Effects of Herbal Product Containing *Rosa multiflora* Roots Extracts as a Main Component on the Hair Growth Promotion, Department of Biotechnology, Graduate School, Kangwon National University, p.14, 2012.
202. Kim EA, The effect of scalp demodex on alopecia, Department of Cosmetology Nambu University, p.20, 2011.
203. Lee SM, The Effects of Hair Loss on Interpersonal Stress, Depression Conditions and Quality of Life, Department of Modeling Design Graduate School of Konkuk University, p.16, 2016.

204. Kim MY, A Study on Public Perception and State of affairs on Scalp & Hair loss care, Major in Cosmetic & Beauty Graduate school of Distance Learning Sookmyung Women's University, p.19, 2008.
205. Kim HS, A Study on The Effect of Naturopathy for Improving State of Scalp and Preventing Hair Loss, Department of Beauty Art Graduate School Of Beauty Art Young san University, p.5, 2010.
206. Moon EJ, A Study on Relations among Service Quality, Customer Satisfaction, and Revisit Intention in Scalp & Hair Loss Care Shop, Department of Cosmetic Beauty The Graduate School of Social Culture Hannam University, p.15, 2014.
207. Jung KB, The Effect of Scalp Care on the Stress of Middle-aged men Who Suffer from Hair Loss, Department of Beauty & Public Health DongDuk Wonmens University, p.12, 2017.
208. 추미건, 홈 케어 두피스케일링 관리가 성인여성의 두피 모발 건강에 미치는 영향, 광운대학교 정보콘텐츠대학원, 석사학위논문, p.i, 2016.
209. Kang SI, Research On Patent Trends of hair loss prevention and hair regrowth, Dept. of Beauty Arts The Graduate School of SeoKyeong University, p.22, 2010.
210. Park HY, A Study on the hair by the pulse generator of high frequency, Department of Electrical Engineering, Graduate School Pusan National University, p.5, 2007.
211. Kim HJ, The present Trend of Diathermic High-Frequency Electro-Therapy, J Research Inst Ind Technol, 66집, pp.105-110, 2007.
212. Oh JY, Lee BS, Kim YC, Hair Growth Promotion Effect and Anti-bacterial Activity against Pityrosporum ovale of Peppermint Oil,

- Journal of Investigative Cosmetology, Vol. 10 No. 4, pp.261-269, 2014.
213. Lee YB, Formulation of Mi Formulation of Minoxidil Topical Dosage Foam contain noxidil Topical Dosage Foam containing, Department of Pharmacy Graduate School, Chungbuk National University Cheongju, Korea, p.13, 2017.
 214. Kim NH, A study of hair growth by herbal medicine included Artemisiaargyi Lev. in C57BL/6 mice., Department of Public Health Graduate School of Daegu Haany University, Gyeong buk, Korea, p.2, 2015.
 215. Kim TY, Effecting of the Scalp Care on Hair Loss by using Sea Cucumber Scalp Enhancer With Sea Cucumber Extract, Department of Cosmetology Graduate School of Engineering, Konkuk University, p.4, 2015.
 216. Shim HS, Hair Loss Alleviation effect of the Scalp Massage and Hair Tonic containing Curcumin, Master of Cosmetology The Graduate School of Konkuk University, p.5, 2010.
 217. Shin HS, Male pattern baldness gene discovery research, Department of Medicin, Major in molecular medicine kyungpook National University, pp.1-3, 2013.
 218. Kim JH, The anti-alopecia effect of solid lipid nanoparticles containing curcumin and the simultaneous treatment with ultrasound, Master of Cosmetology The Graduate School of konkuk university, pp.5-6, 2010.
 219. Jung HN, A Study on the characteristics of Hair-Losers and Factors Causing Hair Loss, Major in Cosmetology Education Graduate School of Education Nambu University, p.2, 2012.
 220. Dictionary meaning of hair growth: <https://www.google.co.kr>.

221. Lee SY, Studies of antifungal, antioxidant and hepatic protective activities of decursin derivative, Department of Herbal Resources, Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University, P.4, 2010.
222. Lee HS, Hwang SY, Effects of DCS-HT[®] Hair Tonic on Hair growth promotion in an Alopecia Model of C57BL/6 Mice, *대 Asian J Beauty Cosmetol*, Vol. 7 No. 3, pp.131-142, 2009.
223. Joo SS, In vitro and In vivo Hair Growth Promotion Effects of Lactobacillus plantarum-Fermented Plant Extracts(MBN), *Korean J Food Sci Technol*, Vol. 43 No. 3, pp.381-386, 2011.
224. Ryu EM, Seo GW, Kee KH, Shin HJ, Effect of Ethanolic Extract from Wheat Sprout on Hair Growth of C57BL/6 mouse, *Kor J Aesthet Cosmetol*, Vol. 11 No. 6, pp.1051-1057, 2013.
225. Lee KM, Lee JS, Oh JY, Kim YC, The Hair Growth Effect of Polygoni multiflori Radix Water Extracts in C57BL/6 Mice, *The Journal of Cosmetological Science*, Vol. 6 No. 4, pp.419-426. 2010.
226. Joo HH, The Relationship between the antioxidation activity and the promotion of hair growth of the Allium cepa extracts, Department of Beauty and Cosmetic Graduate School of Industry Chosun University p.3, 2009.
227. 임채윤, 천연물의 탈모방지 발모효능 확인, 서울대학교 대학원 석사학위논문, p.8, 2012.
228. Lee BM, The effects of New hair tonic mixed Growth factor in C57BL/6 mice models with normal hair cycle, Department of Medicine The Graduate School, Catholic University of Daegu, p.1, 2014.
229. Lee SY, Hair Growth Effects of Cervi Cornu pantotrichum

- Pharmacopuncture Solution on the C57BL/6Mice, Dept. of Korean Medicine Graduate School, Sangji University, 2013.
230. Park SO, Park BS, Noh GY, Effect of natural plant extract (Abelmo) on action mechanism and hair growth activities in C57BL/6 mice, J Korean Oil chem Soc, Vol. 31 No. 4. 2014.
231. Lee MW, Jo HY, Kim TH, Kim NS, Jeong HS, Lee CH, Experimental Studies on the Hair Growth Activity of Mixed Extracts of Mylabris Phalerata Pall. and Drynariae Rhizoma in Spontaneous Alopecia Model and Normal C57BL/6N Mice, Korean J Oriental Physiology & Pathology, Vol. 22 No. 4, 2008.
232. Kim HS, A Study on The Effect of Naturopathy for Improving State of Scalp and Preventing Hair Loss, Department of Beauty Art Graduate School Of Beauty Art Youngsan University, 2010.
233. Lee GH, The influence of scalp management using the cause of hair loss to manage and improve hair loss, Major in Cosmetology Science Graduate School of Nambu University, 2016.
- 234 Kim BNR, Effects of Cicadae Periostracum (CP) in allergic contact dermatitis (ACD) induced by DNCB in mice, Dept. of Korean Medicine Graduate School of Dong Shin University, p.1, 2015.
235. Lee YJ, Effects of *Lonicerae Caulis* (LC) on Allergic Contact Dermatitis (ACD) induced by DNCB in mice, Dept. of Oriental Medicine Graduate School of Dong-Shin University, p.1, 2011.
236. Song JS, Effects of scrophulariae Radix (SR) on allergic contact dermatitis (ACD) induced by DNCB in mice, Dept. of Oriental Medicine Graduate School of Dong-Shin University, p.34, 2011.
237. 이우진, 알레르기성 접촉피부염에서의 신경펩티드와 그 분해효소의 발현,

- 울산대학교 대학원 석사학위논문, p.1, 2008.
238. Cho YS, Kim GJ, The Review on the Experimental Studies of Allergic Contact Dermatitis Published in The Journal of Korean Medical Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology, J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol, Vol. 29 No. 4, pp.78-94, 2016.
 239. Lim TH, The Effects of GalGunSenggi-Tang (GST) on mice induced Allergic Contact Dermatitis (ACD) by DNCB, Dept. of Oriental Medicine Graduate School of Dongshin University, p.29, 2015.
 240. Jang YA, Lee JT, Effects of mixture extract on allergic contact dermatitis and anti-inflammatory, Kor J Herbology, Vol. 29 No. 2, pp.55-60, 2014.
 241. Park DB, Effect of Yanghyeoljeseuptang(YHJST) Composition on atopic dermatitis NC/Nga mice in duced by DNCB(dinitrochlorobenzene), Dept. of Oriental Medicine Graduate School, Daejeon University, p.38, 2008.
 242. Jeong WY, Anti-Atopic Dermatitis Effect of Phyto-Extract Mixture (PEM381), Department of Life Science Graduate School, The University of Suwon, p.34, 2011.
 243. Kim SH, The Effects of Gyejijakyakjimo-Tang on the Allergic Contact Dermatitis induced by DNCB, Dept. of Oriental Medicine Graduate School of Semyung University, p.1, 2009.
 244. Choi HJ, Effect of Betula platyphylla on mast cell-mediated allergic inflammation in vivo and in vitro., Department of Physiology Graduate School Daegu Haany University Gyeongbuk Korea, pp.3-4, 2012.
 245. Kim JY, Molecular Mechanism on 2,4-Dinitrochlorobenzene Mediated Atopic Dermatitis like Immune Response in Mice, Department of Occupational Health The Graduate School, Catholic University of Daegu,

- p.3, 2013.
246. Joung YW, Inhibitory Effect of Prunus meme Seed Essential Oil on Melanogenesis. Department of Oriental Medicine Indusy Graduate School of Daegu Hanny University Gyeongbuk, Korea, p.1, 2017.
 247. Kang WK, Hwang SD, Kim HS, Jeung JS, Lee BU, The Development of Whitening Cosmetic Ingredient Having Activity of Melanin Degradation, Korean J Biotechnol Bioeng, Vol. 22 No. 1, pp.7-15, 2007.
 248. Kim KY, Lee NK, URG Inc., Beauty Art Management, JEJ University, Herbal Extracts Research Trend that have Effects on Melanin Production and Control, Kor J Aesthet Cosmetol, Vol. 12 No. 4, pp.453-461, 2014.
 249. Se DK, Hair Coloring That Use Impatiens Balsamina, Korea J Beauty Design, Vol. 5 No. 2, pp.115-127, 2009.
 250. Kim HJ, A study on standard korean hair color and hair coloring, The Gaduate School of Cultural Information Policy Hongik University, p.6, 2015.
 251. Choi SN, A Study on Methods of making Kakishibu and application, Department Art & Design Korea University, p.9, 2018.
 252. Yoa SJ, Silk and nylon 6 by tannic acid treatment characteristics and properties change in the appearance of research, Department of Clothing & Textiles The Graduate School Ewha Womans University, p.9, 2013.
 253. Lee HG, Study on the estimation of bioactivity in ginseng and agricultural by-product for development of functional feed additives, Department of Animal Bio and Applied Chemistry Science Graduate School of Konkuk University, p.5, 2015.
 254. Ju YR, Evaluation of Feeding Value of Oak Wood (*Quercus mongolica*)

- Roughage and its Effects of Performance of Finishing Hanwoo, Department of Animal Science and Technology Graduate School of Konkuk University, p.24, 2017.
255. Kwon SG, Bae DG, A Study on the Sulfonation of Persimmon Tannin, Textile Coloration and Finishing, Vol. 29 No. 2, pp.69-76, 2017.
256. Lee MS, Hydrolysable tannins of katsura tree bark, Department of Forest Biomaterials Engineering, Graduate School, Kang won National University, p.1, 2017.
257. Choi IK, Gallotannin induced differentiation and inflammation in Rabbit articular chondrocytes, Department of Bioscience Graduat school of Kongju National University Gongju, Korea, p.1, 2010.
258. Bae JS, Ko HS, Choi HJ, Lee JY, Kim SJ, Effect of tannin content in sorghum on digestive enzymes, Korean J Food Preserv, Vol. 23 No. 5, pp.738-745, 2016.
259. 한혜민, 페놀성 화합물 첨가와 제빵단계에 따른 소맥 반죽의 항산화 활성 변화, 계명대학교 대학원 석사학위논문, p.5, 2010.
260. Kim JM, A Study on the Physical/Mechanical Properties of Eco-friendly fabric dyed with Persimmon juice subjected to UV Irradiation, Department of Clothing & Textiles The Graduate School Ewha Womans University, p.6, 2015.
261. Kim JW, Effects of *Lonicerae Caulis* (LC) on Allergic Contact Dermatitis (ACD) induced by DNCB in mice, Dept. of Oriental Medicine Graduate School of Dong-Shin University, p.6, 2007.
262. Kim SG, Literature Study on the Impact of Herbal Processing on the Medicinal Efficacy, Dept. of Oriental Medicine Graduate School of Gachon University, p.17, 2013.

263. Xu YL, A Study on Development of Functional Beverage Using Mung bean, Dept. Of Food and nutrition Graduate School of Gachon University, p.61, 2015.
264. Je HJ, Shin KO, A Review of the General Characteristics and Functions of Acorns, Korean J Food Nutr, Vol. 29 No. 1, pp.58-64, 2016.
265. Choi IK, Gallotannin induced differentiation and inflammation in Rabbit articular chondrocytes, Department of Bioscience Graduate school of Kongju National University Gongju, Korea, p.4, 2010.
266. Lee JS, Quality Characteristics of Dough and Bread with Extruded Chestnut Shell Powder, Department of Food Science and Technology Graduate School, Kongju National University Kongju Korea, p31, 2018.
267. Jang WJ, Studies on Skin Protective Effects of Eckloina cava Extracts, Department Of Chemistry Gaduate School CheJu National University, p.120, 2010.
268. Lee YS, The Effect of Natural Polyphenols in Food Materials on Detecting Phenols in Industrial Wastewater, Dept. of Environmental Engineering The Graduate School of Engineering Hanyang University, p.4, 2014.
269. Lee S, Quality characteristics of Aronia(*Aronia melanocarpa* Michx.) Ell) by different drying method, and optimization of extraction conditions of bioactive substance, Department of Food and Food Service Industry Graduate School, Kyungpook National University Daegu Korea, p.41. 2014.
270. Park HS, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Sasaquelpaertensis Extracts, Dept. of Food Science and Technology The Graduate School of Industry and Engineering Seoul National University

- of Science and Technology, p.17, 2013.
271. Ryu SJ, Dyeing Properties and Functionality of Coptidis Rhizoma Dyed Fabrics with Chitosan and Tannin Treatment, Department of Clothing and Textiles Graduate School of Changwon National University, p.11, 2018.
 272. Jung JS, Park JS, Kim TK, Coloration of Cotton Fabrics with Tannins of Persimmon Extracts by Heating Process, Textile coloration and finishing, Vol. 20 No. 3, pp.25-30, 2008.
 273. 이정순, Colorimetric Properties for Naturally Dyed Fabrics by Tannin Colorants, 2012년도 춘계학술대회, pp.124-125, 2012.
 274. Song HJ, Studies on the whitening effect and active components of fermented persimmon extract, Department of Food Science Graduate School Yeungnam University, p.7, 2017.
 275. Lim JY, A Study on Color Characteristics and Dyeing Properties of Lotus Seedpod, Department of Clothing & Textiles Graduate School Pusan National University, P.5, 2015.
 276. Kim KJ, The study of Henna hair dyeing properties by natural mordant , Beauty & Science Graduate of Kwangju women's University, 2010.
 277. Cho IS, Natural Dyeing of Fabrics with Hibiscus syriacus L. and Hibiscus subdariffa Extract L. Dept. of Clothing and Textiles Graduate School of Gyeongsang National University, p.119, 2015.
 278. Jeoung SJ, A Study on Hair Coloring and Color Fastness from Rubi Fructus, Dept. of Beauty Dept. of Beauty Design Graduate School of Wonkwang University, p.96, 2011.
 279. Jang HR, Kwon HJ, Park DH, Functional Evaluation of Peach Leaf Extract as a Material for Natural Cosmetics, Kor J Aesthet Cosmetol,

- Vol. 12 No. 2, pp.299-304, 2014.
280. Jung YS, Phlorotannin, an extract of Ecklonia cava, and its anti-inflammatory effect on chronic nonbacterial prostatitis in a white rat model, Doctor of Philosophy in Medical Science Graduate School The Catholic University Of Korea Seoul, Korea, p.2, 2012.
281. Ahn YS, Geberea manuel Meron Regu Oh EK, Kwon OR, Inhibitory effects of persimmon(Diospyros kaki Thumb.)against diet-induced hypertriglyceridemia/hypercholesterolemia in rats, J Nutr Health, Vol. 50 No. 3, pp.225-235, 2017.
282. 임영순, 연옥과 감잎 탄닌 복합물을 함유한 염모제 조성물, 10-2016-0167503(2016년12월09일), 등록특허 10-1796436, 2017.
283. 이남호, 감태에서 추출한 플로로탄닌 혼합물을 함유 하는 산화염색용 염모제 조성물, 10-2011-0043730(2011년05월11일), 등록특허 10-1239115, 2013.
284. 김희경, 감(잎) 탄닌을 함유하는 산화 염모제 조성물 10-2007-0007830(2007년01월25일), 등록특허 10-1289726, 2013.
285. 김남경, 이선희, 자극완화 및 미백능이 있는 인삼꽃 발효물의 제조방법, 10-2013-0050568(2013년05월06일), 등록특허 10-1366498, 2014.
286. 남승희, 양광열, 석류로부터 엘라그산을 효율적으로 분리하는 방법 및 이를 함유한 기능성 화장품 조성물, 10-2009-0094750(2009년10월06일), 등록특허 10-1091641, 2011.
287. 최송암, 감태에서 추출한 플로로탄닌을 함유하는 아토피 질환의 치료 또는 예방용 조성물, 10-2007-0108793(2007년10월29일), 공개특허 10-2009-0043115, 2009.
288. 이상한, 감 추출물 또는 탄닌을 유효성분으로 함유하는 면역관련 질환 치료용 조성물, 10-2008-0010173(2008년01월31일), 공개특허 10-2009-0084159,

2009.

289. 김인석, 박건영, 현미가루와 수수가루를 주원료로한 라면의 면 제조방법, 10-2016-00752 19(2016년06월16일), 공개특허 10-2017-0142027, 2017.
290. 임규선, 알밤냉면 및 이의 제조방법, 10-2011-0086554(2011년08월29일), 등록특허 10-1304742, 2013.
291. 한기동, 홍시 푸레를 이용한 홍시 푸딩의 제조방법, 10-2010-0085691(2010년09월01일), 등록특허 10-1246637, 2013.
292. 임상채, 블루베리 단풍잎의 기능성을 더한 블루베리 와인의 제조 방법, 10-2013-0107824(2013년09월09일), 등록특허 10-1509602, 2015.
293. 강성웅, 감 막걸리 및 그 제조방법, 10-2010-0071824(2010년07월26일), 등록특허 10-1178953. 2012.
294. 김장식, 도토리 분말을 이용한 전통차, 10-2007-0125503(2007년12월05일), 공개특허 10-2009-0058759, 2009.
295. 백순기, 천연바이오 추출물과 농축미생물 기능성 세라믹을 연계한 저수지 녹조 제거 및 수질 정화장치, 10-2015-0132902(2015년09월21일), 공개특허 10-2017-0034532, 2017.
296. 이강협, 저알칼리 바이오 콘크리트를 이용한 친환경 탈출 수로관 제작방법 10-2014-0069300(2014년06월09일), 공개특허, 10-2015-0141231, 2015.
297. 김근한, 고품폐기물을 이용한 바이오 흡착제의 제조방법, 10-2011-0013266(2011년 02월15일), 등록특허 10-1300100, 2013.
298. 최하영, 녹차씨 추출물을 이용한 탈취제 및 그 제조방법, 10-2009-0098812(2009년 10월16일), 등록특허 10-1074764, 2011.
299. Kim JM, Shin YK, Kim BO, Kim JK, Lee SH, Kim YS, Effect of Artemisa capilaris Extracts on Antioxidant Activty and Alergic Dermatis, Journal of Life Science, Vol. 2. No. 7. pp.958-963, 2012.
300. Bockaert J, Pin JP, Molecular tinkering of G protein-coupled

- receptors: An evolutionary success. EMBO J, Vol. 18. No. 7, pp.1723 - 1729, 1999.
301. Inoue S, Nambu T, Shimomura T, The RAIG Family Member, GPRC 5D, Is Associated with Hard-Keratinized Structures. J Invest Dermatol Vol. 122 NO. 3, pp.565 - 573, 2004.
 302. Yamago G, Takata Y, Furuta I, Urase K, Momoi T, Huh N, Suppression of hair follicle development inhibits induction of sonic hedgehog, patched, and patched-2 in hair germs in mice. Archives of dermatological research. Vol. 293, pp.435-441, 2001.
 303. Lee JH, Wnt signaling in hair follicle development. Asian J Beauty Cosmetol, Vol. 15 No. 2, pp.242-246, 2017.
 304. Li YH, Zhang K, Ye JX, Lian XH, Yang T, Wnt10b promotes growth of hair follicles via a canonical Wnt signalling pathway, Clin Exp Dermatol, Vol. 36, pp.534-40, 2011.
 305. Kljuic A, Bazzi H, Sundberg JP, Martubez-Mir A, O'Shaughnessy R, Mahoney MG, Levy M, Montagutelli X, Ahmad W, Aita VM, Gordon D, Uitto J, Whiting D, Ott J, Fischer S, Gilliam TC, Jahoda CAB, Morris RJ, Panteleyev AA, Nguyen VT, Christiano AM, Desmoglein 4 in hair follicle differentiation and epidermal adhesion, Evidence from inherited hypotrichosis and acquired pemphigus vulgaris Cel, Vol. 113, pp.249 - 260, 2003.
 306. Fujikawa H, Fujimoto A, Farooq M, Ito M, Shimomura Y, Characterization of the Human Hair Keratin - associated protein 2 (KRTAP2) Gene Family, J Invest Dermatol, Vol. 132, pp.1806-1813, 2012.
 307. Qiu W, Lei M, Tang H, Yan H, Wen X, Zhang W, Tan R, Wang D,

- Wu JJ, Hoxc13 is a crucial regulator of murine hair cycle, *Cell Tissue Res*, Vol. 364, pp.149-158, 2016.
308. Shimomura Y, Agalliu D, Vonica A, Luria V, Wajid M, Baumer A, Belli S, Petukhova L, Schinzel A, Brivanlou AH, Barres BA, Christiano AM, APCDD1 is a novel Wnt inhibitor mutated in hereditary hypotrichosis simplex, *Nature*, Vol. 464. No. 7291, pp.1043-1047. 2010.
309. Kiso M, Tanaka S, Saba R, Matsuda S, Shimizu A, Ohyama M, Okano HJ, Shiroishi T, Okano H, Saga Y, The disruption of Sox21-mediated hair shaft cuticle differentiation causes cyclic alopecia in mice, *PNAS*, Vol. 106 No. 23, pp.9292-9297, 2009.
310. 주현정, 연령별 두피 및 모발관리 실태, 성결대학교 교육대학원 석사학위 논문, p.12, 2015.
311. Oh GS, Ryu EJ, The Morphological Structure of Female Telogen Effluvium and Alopecia Areata Hairs According to Curriculum Contents of Beauty Art Department, *Journal of the Korean Society of Design Culture*, Vol. 20 No. 4, pp.409-419, 2014.
312. Jung HH, Shin MK, Lee SY, Lee SR, KIm MS, Effect of Extract from Fermented Black Soybean (*Glycine max* var. Seoritae) on the Hair Damaged by Decolorization, *J Soc Cosmet Sci Korea*, Vol. 43, No. 2, pp.149-155, 2017.
313. Cho BS, Personality and attitude of hair style on Hair thickness · form, *Maior in Hair Design Graduate School of Beauty Arts Seo kyeong University*, p.6. 2007.
314. Lee, AY, The effect of no-shampoo on the scal, *Department of Cosmetology Graduate School of Engineering Konkuk University*, p.5,

2017.

315. Choi GS, Hair characteristics and androgenetic alopecia in Koreans, J Korean Med Assoc, Vol. 56. No. 1. pp.45-54, 2013.
316. Kong MK, Promotion Effect of Black Sesame Oil on Hair Growth in an Alopecia Model of C57BL/6 Mice, Department of Public Health Graduate School, Keimyung University, p.1, 2008.
317. Song HJ, A Study on the Awareness and Satisfaction Depending on the Scalp-Hair Treatment Center Use Conditions, Dept of Beauty & health Care Graduate School, Daejeon University, pp.10-11, 2015.
318. Park SH, Study on the Effect of Hair Toner Formulated with Rubus Occidentalis L. Extract on Damaged Hair, Department of Cosmetic Science & Management Incheon National University, p.22, 2018.
319. Lee KH, Eclipta prostrata L. promote anagen induction in C57BL/6N mice, Department of Korean Medicine, Graduate School, Pusan National University, p.30, 2015.
320. Lee JH, Wnt Signaling in Hair Follicle Development, Asian J Beauty Cosmetol Vol. 15 No. 2, pp.242-246, 2017.
321. Jang JH, Effects of SFRP2 on the Wnt/ β -catenin signaling of hair follicle, Department of Medicine, Major in molecular medicine Graduate School, Kyungpook National University Daegu, Korea, p.1, 2013.
322. Shin YH, Establishment of Culture Methods of Human Hair Follicle, Component Cells and In Vitro Induction of Hair Structure by 3-D Culture Technology, Department of Chemical and Biochemical Engineering Graduate School Dongguk University, p.11, 2005.
323. del Marmol V, Beermann F, Tyrosinase and related proteins in mammalian pigmentation, FEBS Letters, Vol. 381, pp.165-168, 1996.

324. Akey JM, Wang H, Xiong M, Wu H, Liu W, Shriver MD, Jin L, Interaction between the melanocortin-1 receptor and P genes contributes to inter-individual variation in skin pigmentation phenotypes in a Tibetan population, *Hum Genet*, Vol. 108 No. 6, pp.516-520, 2001.
325. Sarangarajan R, Boissy RE. Tyrp1 and Oculocutaneous Albinism Type 3, *PIGMENT CELL RES*, Vol. 14, pp.437 - 44. 2001.
326. Budd PS, Jackson IJ : Structure of the mouse tyrosinase-related protein-2/dopa chrome tautomerase (Tyrp2/Dct) gene and sequence of two novel slaty alleles, *Genomics*, Vol. 29 pp.35 - 43, 1995.
327. Inoue S, Nambu T, Shimomura T, The RAIG family member, GPRC5D, is associated with hard-keratinized structures, *J Invest Dermatol*, Vol. 122 No. 3, pp.565 - 573, 2004.
328. Kljuic A, Bazzi H, Sundberg JP, Martinez-Mir A, O'Shaughnessy R, Mahoney MG, Levy M, Montagutelli X, Ahmad W, Aita VM, Gordon D, Uitto J, Whiting D, Ott J, Fischer S, Gilliam TC, Jahoda CAB, Morris RJ, Panteleyev AA, Nguyen VT, Christiano AM, Desmoglein 4 in Hair Follicle Differentiation and Epidermal Adhesion: Evidence from Inherited Hypotrichosis and Acquired Pemphigus Vulgaris, *Cell*, Vol. 113, pp.249 - 260, 2003.
329. Yamago G, Takata Y, Furuta I, Urase K, Momoi T, Huh NH : Suppression of hair follicle development inhibits induction of sonic hedgehog, patched, and patched-2 in hair germs in mice, *Archives of dermatological research*, Vol. 293, pp.435-441, 2001.
330. Qiu W, Lei M, Tang H, Yan H, Wen X, Zhang W, Tan R, Wang D, Wu JJ, Hoxc13 is a crucial regulator of murine hair cycle, *Cell*

- Tissue Res, Vol. 364, pp.149–158, 2016.
331. Hong HK, Noveroske JK, Headon DJ, Liu T, Sy MS, Justice MJ, Chakravarti A, The winged Helix/Forkhead Transcription Factor Foxq1 Regulates Differentiation of Hair in Satin Mice, Genesis, Vol. 29, pp.163–171, 2001.
 332. Schlake T, Schorpp M, Maul-Pavicic A, Malashenko Am, Boehm T. Forkhead/Winged-helix transcription factor Whn regulates Hair keratin gene expression: molecular analysis of the nude skin phenotype. Developmental Dynamics, Vol. 217 No. 4, pp.368–76, 2000.
 333. Shimomura Y, Agalliu D, Vonica A, Luria V, Wajid M, Baumer A, Belli S, Petukhova L, Schinzel A, Brivanlou AH, Barres BA, Christiano AM, APCDD1 is a novel Wnt inhibitor mutated in hereditary hypotrichosis simplex, Nature, Vol. 464 No. 7291, pp.1043–1047. 2010.
 334. del Marmol V, Beermann F, Tyrosinase and related proteins in mammalian pigmentation, FEBS Letters, Vol. 381, pp.165–168, 1996.
 335. Akey JM, Wang H, Xiong M, Wu H, Liu W, Shriver MD, Jin L, Interaction between the melanocortin-1 receptor and P genes contributes to inter-individual variation in skin pigmentation phenotypes in a Tibetan population, Hum Genet, Vol. 108 No. 6, pp.516–520, 2001.
 336. Sarangarajan R, Boissy RE. Tyrp1 and Oculocutaneous Albinism Type 3, PIGMENT CELL RES, Vol. 14, pp.437 - 44. 2001.
 337. Budd PS, Jackson IJ, Structure of the mouse tyrosinase-related protein-2/dopa chrome tautomerase (Tyrp2/Dct) gene and sequence of two novel slaty alleles, Genomics, Vol. 29 No. pp.35 - 43, 1995.