



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

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

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



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

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

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

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

[Disclaimer](#)

2020년

2월

석사학위논문

모발 DNCB에 의한 피부염 생쥐의 모발 주기
영향에 미치는 genistein의 영향

장은정

2020년 2월
석사학위 논문

DNCB에 의한 피부염 생쥐의
모발주기와 모발성장에 미치는
genistein의 영향

조선대학교
산업기술융합대학원

미용향장학과

장 은 정

DNCB에 의한 피부염 생쥐의
모발주기와 모발성장에 미치는
genistein의 영향

Effect of genistein on the hair cycle and
the hair growth in DNCB-induced
dermatitis mice

2019년 10월

조선대학교
산업기술융합대학원

미용향장학과

장 은 정

DNCB에 의한 피부염 생쥐의
모발주기와 모발성장에 미치는
genistein의 영향

지도교수 류 은 미

이 논문을 미용향장학 석사학위신청 논문으로 제출함

2019년 10월

조선대학교
산업기술융합대학원

미용향장학과

장 은 정

장은정의 석사학위논문을 인준함

위원장 조선대학교 교수 이병래



위 원 조선대학교 교수 이중헌



위 원 조선대학교 교수 류은미



2019년 11월

조선대학교
산업기술융합대학원

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	5

II. 연구이론

1. 모발	7
1.1 모발	7
1.2 모발의 구성 및 기능	7
1.3 모발의 주기	8
2. 두피	10
3. 탈모	11
4. 피부염	13

5. 제니스테인 14

Ⅲ. 실험 재료 및 방법

1. 실험재료

1.1 실험재료 16

1.2 실험동물 16

2. 실험방법

2.1 피부염 유발 과정 17

2.2 육안적 관찰(외형효과) 17

2.3 조직학적 분석(Hematoxylin & Eosin) 18

2.4 피부 조직 전사체(Transcriptome) 분석 18

Ⅳ. 실험 결과 및 고찰

1. 제니스테인이 생쥐에서 DNCB에 의한 염증피부의 육안적 관찰 22

2. 제니스테인 투여가 DNCB 피부염 생쥐의 조직학적 분석 24

3. DNCB 피부염 생쥐의 모발 주기 관련 유전자의 발현 변화 26

4. DNCB 피부염 생쥐의 멜라닌 생합성 관련 유전자의 발현 변화 30

V. 결론 및 제언 34

참 고 문 헌
감사의 글

LIST OF TABLES

Table 1.	Experimental design	20
Table 2.	Alterations of hair cycle related genes in skin of DNCB-dermatitic mice by RNA-seq analysis	28
Table 3.	Select skin transcripts related to hair cycle in genistein treated DNCB-dermatitic mice by RNA-seq analysis	29
Table 4.	Select skin transcripts related to hypotrichosis in genistein treated DNCB-dermatitic mice by RNA-seq analysis	32
Table 5.	Select skin transcripts related to hypotrichosis in genistein treated DNCB-dermatitic mice by RNA-seq analysis	33

LIST OF FIGURES

Fig. 1. Schematic diagram of the study.	6
Fig. 2. Schematic of the sublamellarstructure of the human hair cuticle.	9
Fig. 3. Structure of scalp.	12
Fig. 4. Structure of Genistein.	15
Fig. 5. Experimental protocol for induction of DNCB-dermatitis Genistein administration.	21
Fig. 6. Effects of Genistein on DNCB-induced dermatitis(DNCB) balb/c mice.	23
Fig. 7. Histological features of the skin in the dinitroc hlorobenzene(DNCB)-treated Balb/c mice at 4 weeks after the start of DNCB administration.	25

ABSTRACT

Effect of genistein on the hair cycle and the hair growth in DNCB-induced dermatitis mice

Eun Jung Jang

Advisor : Eun-Mi Ryu, Ph.D

Dept. of Beauty and Cosmetic

Graduate School of Chosun University

As the damage to the scalp and hair increases due to various causes such as stress, environmental pollution, and diet, attention to healthy hair and scalp is increasing and awareness of management is increasing. The experimental results of genistein's effect on the hair cycle of the skin of the hymenitis from mice to DNCB are as follows.

The experimental method used a 5-week-old male Balb/c mouse for animal testing, and DNCB (2,4-Dinitroclobenzene) was used in the first test to cause contact dermatitis in mice's skin. The second experiment is to visually observe changes in the skin of rats by administering genistein, and to analyze the histological analysis and transcription through hematocillin & fish dyeing method to identify the genistein action mechanism associated with atopic dermatitis. Symptoms of dermatitis in dermal visual observation were substantially improved by genistein administration, and hair follicles appeared in a round shape.

Conclusion Genistein administration helps improve symptoms of DNCB dermatitis,

and hair cycle or hair growth deterioration caused by dermatitis can be improved and helpful.

I. 서 론

1. 연구배경

젊고 아름다운 외모를 유지하고자하는 욕구가 자연스럽게 대두되면서 건강한 피부, 날씬한 몸매와 더불어 건강한 두피와 머릿결을 유지하는 것이 건강과 미용에 관한 관심이 고조 되었다(1). 외모를 관리하는 방법 중엔 다이어트, 메이크업, 피부관리, 두피·모발관리 등이 있는데(2) 서양의 유물론자인 체르니셰프스키(Chernyshevskii, Nikolai, Gavrilovich)는 미는 생명이며 생명의 완전한 발현(3)이라고 말했을 정도로 아름다움을 추구하는 것은 인간의 가장 중요한 부분 중 하나이다. 신체적 건강뿐만 아니라 피부건강에 대한 관심이 높아지고 미용에 대한 인식이 변화되면서 남녀를 불문하고 추구하는 아름다움이 다양해지고 있다(4). 스트레스와 환경오염, 식생활 등 여러가지 원인으로 두피와 모발의 손상이 증가하면서 건강한 모발과 두피에 대한 관심이 높아지고 관리에 대한 인식 또한 증가하고 있다(5). 인간의 면역계는 특정 항원에 의해 비정상적으로 반응하여 상해를 유발시키는 질환을 아토피(atopy)라 말한다(6). 아토피피부염 그 가족은 낮은 삶의 질을 경험할 위험이 높으며, 삶의 질 저하에 영향을 미치는 요인을 탐색하는 것은 이들의 삶의 질을 향상시키기 위한 첫 걸음이라고 볼 수 있다(7).

아토피피부염은 발병인자가 매우 다양하며 성장하면서 기관지 천식이나 알레르기 비염 등으로 진행하기도 하며, 아나필락시스가 초래되어 생명의 위협을 받기도 한다(8). 아토피 피부염의 치료를 위해 주로 대중치료를 목표로 하는데

습진질환의 증상완화를 위해 부신피질호르몬제를 사용하고 소양감을 경감시키기 위해 항히스타민제를 사용하고(9) 피부염의 치료로는 부신피질호르몬, 항히스타민제, 항생제와 스테로이드제(10) 등을 광범위하게 사용하고 있는데 이러한 복합적인 약물 사용은 독성을 더 증가 시키는 치료의 부작용을 가져 올 수 있다(11). 이러한 약물요법 이외에 광선치료를 하고 자외선을 이용한 광선치료, 적외선을 이용한 LED 치료 그리고 천연 재료를 찾아 현재까지 다양한 연구가 진행 중에 있다(12). 의식주 반에 걸쳐 자연에 가까워 지려는 웰빙이 각광을 받고 있으며, 사람들은 인공인 제품보다 자연 친화적인 제품을 추구하고 있다(13). 환경, 유전, 식습관 등 다양한 원인들이 작용하여 치료에 어려움이 많다.

2. 연구 동향

아토피 피부염은 심한 소양증을 동반하는 만성 염증성 피부질환으로 원인은 명확히 알려져 있지 않지만, 유전적 배경, 숙주의 환경, 피부 장벽의 손상 및 면역학적 요인의 상호작용에 의해 발생하는 것으로 생각된다(14). 모발(hair)은 피부부속기관인 모낭(hair follicle)에서 발생되며, 두발과 체모를 포함한 모낭이 전신에 분포되어 있다(15). 모발은 피부의 부속기관이며 피부가 변성되어 탄력성 있는 각질이 쌓여 생성된 것이다(16). 모발의 각 성장주기에 따라 다양한 인자들이 작용함으로써 양모 또는 탈모를 유발하게 된다(17).

탈모증은 정상적인 피부에서 비정상적으로 일시적으로나 영구적으로 털이 빠지는 현상으로 혈액순환 장애와 신경계통의 이상으로 두피와 모발을 손상 시켜 탈모가 발생한다(18). 탈모는 유전적인 요인과 남성 호르몬의 과다, 정신적 스트레스, 혈액순환 및 영양장애, 내분비장애, 자가 면역 질환, 환경오염, 서구화된 식습관으로 인한 영양 불균형 등 직, 간접적인 영향을 미칠 수 있는 요인에 의해서 발생한다(19). 모발 성장을 촉진하는 약물로는 미국 Food and Drug Administration(FDA)에서 공인받은 것으로 미녹시딜(minoxidile)과 피나스테라이드(finasteride)두 가지 뿐이다(20). 발모 탈모방지 효과를 유지하기 위해서는 평생 동안 지속적인 사용이 요구되며, 장시간 사용시 부작용과 지속의 어려움으로 인해 사용이 제한되는 실정이다(21). 이러한 신뢰성 부족으로 인해 모발의 치료에는 한계가 있어 새로운 접근법을 필요로 하는 의학적인 문제는 연구과제로 남아있다(22). 탈모증 예방 및 발모는 많은 사람들의 관심을 받고 있다.

최근들어 탈모나 피부염에 관한 천연물의 연구로는 부채마 에탄올추출물(23), 당귀(24), 쑥(25), 한련초(26), 석창포(27), 소나무 진(28), 키위추출물(29), 밀싹추출물(30),

황기에탄을 추출물(31), 호장근추출물(32)과 같은 연구 등이 활발히 진행되고 있다. Genistein은 대두단백질 중 가장 강력한 항산화제로 LDL-cholesterol의 산화를 막아주는 항산화제 역할을 한다(33). genistein의 섭취가 항산화 효소의 활성을 향상시키고 염증반응을 억제하여 상처 치유에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료되고(34) 피부 각질 형성세포의 TEER(transsepithelial electrical resistance)을 증가시키며 피부세포의 이동을 촉진시킨다(35). 제니스테인(genistein)은 대두에서 추출한 대표적인 이소플라본 화합물 중 하나이며 노화 방지 및 항염증 활성 효과에 대한 연구(36)가 많이 이루어지고 있는데 피부에서 항산화와 항암 효과를 지니고 있는 것으로 보고(37)된 바 있고 염증완화 및 암세포 증식 억제, 세포 이동성 촉진 등에 효과가 보고되었다(38). 그러므로 천연 식품에서의 관심이 높을 때 그 유용성이 크고 쉽게 접할 수 있는 원료를 이용하여 바쁜 현대인이 어디서나 쉽게 이용할 수 있는 형태의 제품이 보다 필요하다(39).

3. 연구 목적 및 내용

본 연구는 제니스테인이 피부염증 개선과 모발주기에 어떠한 영향을 미치는지 알아보려고 동물실험을 진행하였으며 연구의 모식도는 다음과 같다.

첫 번째, 본 실험에 사용된 제니스테인, DNCB(2,4-dinitrochlorobenzene), acetone, olive oil, paraformaldehyde, xylene 및 ethanol은 Sigma-Aldrich Co.(St.Louis, MO, USA)를 구매하여 사용하였다.

두 번째, 동물실험은 1차 실험과 2차 실험으로 나누고, 1차 실험은 DNCB(2,4-dinitrochlorobenzene)를 이용해 생쥐의 피부(등) 부위에 접촉성 피부염을 유발 시킨다. 2차 실험은 제니스테인을 투여하여 생쥐의 피부 변화를 관찰한다.

세 번째, 2차 실험에서 육안적 관찰이 끝난 후 생쥐를 경추 도살 시킨 다음, 적출된 피부 조직은 hematoxylin & eosin 염색법을 통해 조직학적 분석을 한다.

네 번째, 생쥐의 피부 전사체(transcriptome)를 분석하여 아토피성 피부염증에 관련된 제니스테인의 작용기전을 규명한다.

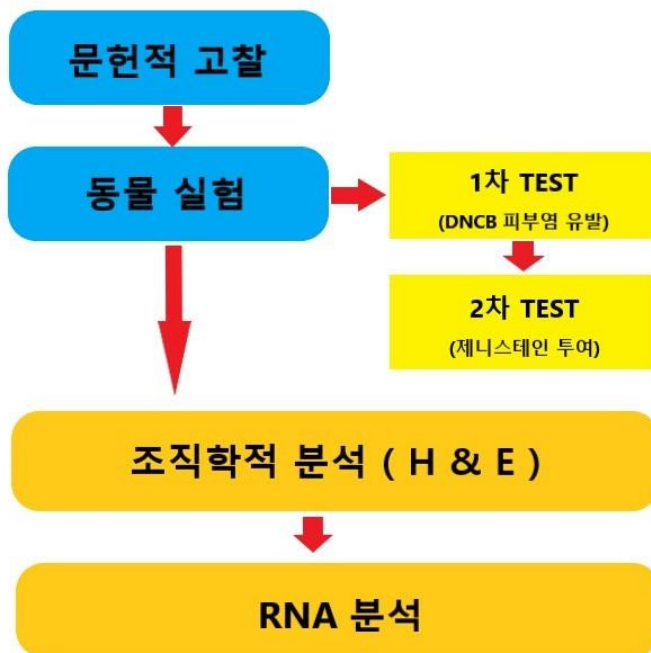


Fig. 1. Schematic diagram of the study.

Ⅱ. 연구이론

1. 모 발

1.1 모 발

모발은 피부의 일부가 변화되어 생성된 피부의 부속기관으로(40) 피부 표피에서 생기며 손바닥, 발바닥, 입술 등의 점막을 제외한 몸 전체에 나 있다(41). 개인과 인종에 따라 다르나 5~15층의 투명한 얇은 세포로 발수성, 친유성의 성질을 가지며 마찰에 약하고 모피질을 보호하고 수분 증발을 억제한다(42). 모발을 형성하는 구조로는 크게 모근부와 모간부로 나뉘고(43) 아미노산의 종류나 각각의 함유량에 의해 형상이나 성질이 달라질 수 있다(44).

1.2 모발의 구성 및 기능

모발의 성분은 단백질의 일종인 케라틴으로 약 80~90%로 구성되고, 18종 아미노산으로 산성 아미노산, 중성 아미노산, 염기성 아미노산으로 되어있다(45). 모발은 연·경단백질로 구성되어 있으며, 특히 경(hard) 단백질인 케라틴(keratin)은 시스틴(16%) ,알기닌(9. 6%) ,페닐알라닌(2. 7%) ,매치오닌(1. 0%) ,히스티닌(0. 9%) ,세린(7. 6%) ,루타민산 (14. 4%) ,기타(47. 8%)등의 18종의 아미노산으로 구성되어 있으며 10%정도의 수분을 함유하고 있으며, 최대 30%정도 까지 수분에 팽윤될 수 있다(46).

1.3 모발의 주기

사람의 모발 주기는 성장기, 퇴화기, 휴지기, 활동기로 나눌 수 있고(16, K. G. Lim, 2007) 모발성장은 한달에 8mm~10mm이상이고, 평균수명은 3~6년, 성장기와 휴지기의 비율이 9:1이다(47). 성장기에는 모발, 모낭 내 구조물 역시 성장하며 모유두 주변의 모기질 각질형성세포는 높은 증식활성을 보이며 퇴행기에서는 부분 모낭 내 각질형성세포의 세포자살(apoptosis)이 일어나고 멜라닌 색소의 생성단, 세포 외 기질의 재구성과 함께 모유두의 수축이 일어나게 되어 모낭은 결과적으로 퇴화하여 휴지기에 모낭이 탈락되게 된다(48). 이러한 발생기의 4주기를 모주기 라고 한다.

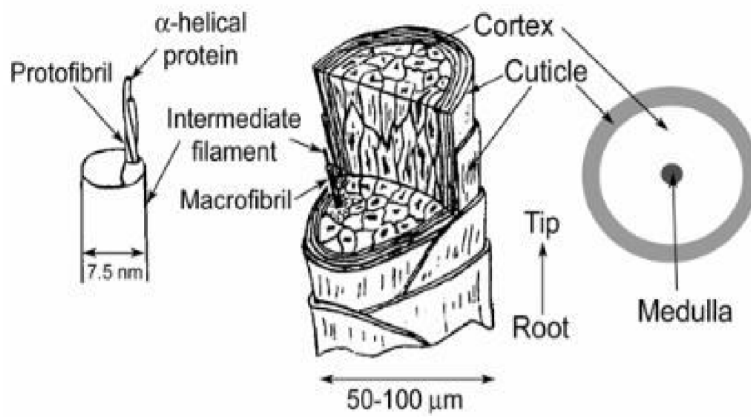


Fig. 2. Schematic of the sublamellar structure of the human hair cuticle.

2. 두 피

신체의 큰 조직인 피부는 각 부에 따라 얼굴, 손바닥, 손등 등 다양하게 명칭이 구분되고 있고(49) 두피는 수많은 모공을 통해 1~4의 모발이 자라나는 곳으로 두피의 상태에 따라 모발의 건강이 달라질 수 있다(50). 대략 수분 70%, 단백질 27%, 지방 2.5% 무기질 (미네랄) 0.5% 정도로 이루어져 있으며 모체 내에서 뇌와 함께 형성된다(51). 혈액으로부터 공급받은 산소와 영양소를 흡수하여 사용하고 탄산가스와 노폐물을 다시 혈액으로 돌려보내는 기능을 지니고 있다(52). 두피는 인체의 중금속을 체외로 배출 시키는 기능 및 모발의 생성과도 관계가 있다(53). 모낭이나 피부에 기생하는 모낭충은 리파아제를 분비하여 피지와 모근의 지질 성분을 분해시켜 영양분을 사용함으로 모근에 손상을 주며 분비물과 사체로 피지 속으로 전이시켜 염증을 유발 시키며, 모근을 갉아먹으며 두피와 모발의 손상을 가속화 시킨다(54). 두피의 표면은 약산성(pH4.5~6)이기 때문에 병원균의 번식활동을 막아준다(55).

3. 탈 모

탈모는 잘 자라던 모발이 갑자기 빠지게 되어 모발이 결여되거나 그 수가 감소하는 것을 말하며(56) 여러 가지 내외적 요인에 의해서 두피와 모낭이 손상을 받아 성장기 모발의 모근과 모유두의 활동이 멈추게 되면서 휴지기로 빠르게 이행되어 휴지기 모발의 탈락으로 나타난다(57). 탈모의 원인으로는 스트레스로 인한 어깨, 목 주위의 긴장이 근육 통증을 일으켜 혈관이 압박하면서 자율신경이 균형을 잃고 두피에 혈액순환에 영향을 준다(58). 이렇게 탈모는 유전적 원인 외에도 환경적 요인 즉, 잘못된 식습관, 스트레스, 음주, 자세 등으로 인해 증가하고 더불어 여성들의 탈모현상이 남성 탈모 못지않게 급증하고 있다(59). 흔히 탈모는 반흔성탈모증과 비반흔성탈모증으로 구분한다(60). 반흔성 탈모증은 모낭이 파괴되고 섬유조직으로 회복되어 영구적인 탈모상태가 되는 것으로 외상, 홍반성 루푸스, 경피증, 편평태선, 종양, 감염 등이 원인이 된다(61). 비반흔성 탈모증은 조직이 섬유화 되지 않고 모낭도 그대로 보존되어 있는데, 휴지기 탈모증, 유전성 안드로겐 탈모증, 원형탈모증, 생장기 탈모증 등이 있다(62). 탈모를 일으키는 유전자는 우성이므로 한 쌍의 유전자 중 한 개만 가져도 발현 가능하다(63).

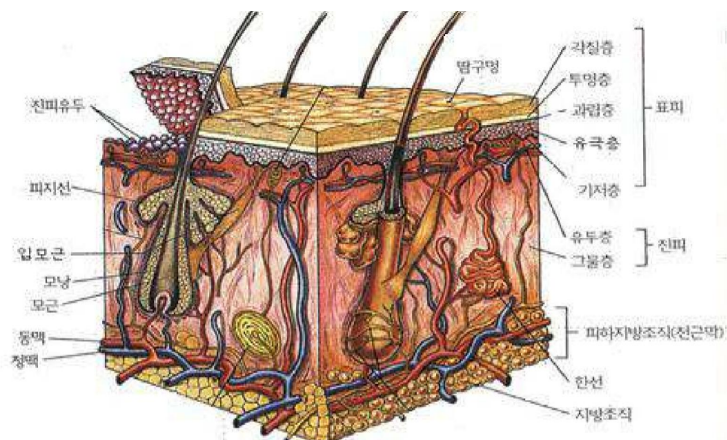


Fig. 3. Structure of scalp⁽⁶⁴⁾.

4. 피부염

피부조직은 외측에서부터 크게 표피층(epidermis layer), 진피층(dermis layer), 피하지방층(subcutaneous layer)으로 나눌 수 있다(65). 피부의 최외곽층인 표피의 각질층은 케라틴 단백질과 각질세포간 지질로 구성되어 있어 외부 물질의 피부 투과를 방해하는 피부 장벽 역할을 한다(66). 표피와 진피층 사이에는 단순한 기저막 부위와 보다 복잡하고 조직화되어있는 표피와 진피의 연결부위가 있는데 이는 기저세포의 원형질막을 구성하는 반교소체와 기저판과 콜라겐 섬유 영역 등으로 구성되어 있다(67). 표피의 부분을 구성하고 있는 각질형성세포들은 기저층에서부터 세포분열하여 차츰 위쪽으로 이동하다가 일정기간 후에는 각질층에 이르러 죽은 세포가 되어 피부 밖으로 자연 탈락 된다(68). 모공은 피지선에서 생산되는 피지를 운반하는 모낭에 연결되어 있어, 피부 보호막인 피지막을 형성하도록 분비되는 매우 작고 좁은 관이다(69).

접촉성 피부염이란 외부 물질과의 접촉에서 발생하는 피부의 염증반응으로 발생 기전에 따라 자극접촉피부염 (Irritant contact dermatitis ,ICD)과 알르기접촉피부염 (Alergic contact dermatitis ,ACD) 으로 세분된다(70). 접촉피부염의 진단은 환자의 병력, 병변의 위치, 발진의 경과등을 관찰하여 원인 물질을 추정할 수 있으나, 원인의 규명은 첩포검사가 가장 우수한 진단 방법으로 알려져 있다(71).

5. 제니스테인

Genistein 은 콩과 식물에서 발견되는 isoflavone의 한 종류로서 당뇨병, 암 및 폐경기 증후군 개선 등 여러 가지 생리활성을 가진 것으로 알려져 있다(72).

노화는 피부 두께와 상피 세포의 수가 감소되면, 폐경 후 피부노화는 에스트로겐 결핍과 직접적인 연관이 있는 것으로 보인다(73). 에스트로겐은 각질세포의 증식을 촉진하고, 진피에서 혈관을 자극하여 섬유 아세포에서 콜라겐, 탄성 섬유 및 글리코사미노글리칸의 합성을 자극하며, 에스트로겐의 감소는 여러 가지 피부 변화와 관련이 있으며, 피부 건조, 위축, 미세한 주름 및 상처 치유 지연과 관련이 있다(74). 제니스테인은 에스트로겐 수용체 β (estrogen receptor beta)에 결합하는 식물성 에스트로겐(phytoestrogens)으로서 피부 변화를 개선 시킬 수 있는 것으로 알려져 있다(75). 에스트로겐 수용체알파(ER α)는 모낭의 진피 유두 세포(dermal papilla cells)로 제한되나, 에스트로겐 수용체베타(ER β)는 외근막 세포(outer root sheath cells), 상피 매트릭스 세포(epithelial matrix cells), 진피 유두 세포 및 외근막 특화된 돌출 영역의 세포(specialized bulge region of the outer root sheath)에서 발견되어 모낭에서 ER β 발현이 높은 것으로 알려져 있다(76).

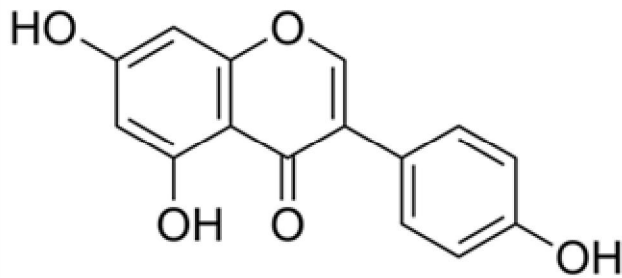


Fig. 4. Structure of Genistein.

Ⅲ. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

1.1 실험재료

실험에 사용된 제니스테인, 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, Animal Clipper, 제모크림 및 나머지 재료는 재료상점에서 구매하여 사용하였다.

1.2 실험동물

생후 5주된 male Balb/c 종 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 고형사료와 물을 충분히 공급하였다. 생쥐를 5마리씩 나누어 총 30마리를 실험에 사용하였고 조선대학교 동물실험 윤리 위원회 승인(승인번호: CIACUC 2019-A0021)을 받아 동물실험 윤리 규정을 준수하며 실험을 진행하였다.

2. 실험방법

2.1 피부염 유발 과정

생후 5주된 male Balb/c 중 생쥐를 (주)샘타코(Samtako)에서 분양받아 1주일 간 적응시킨 후 1차 실험과 2차 실험으로 진행하였다. 1차 실험에서는 생쥐의 등부위에서 시작하여 전기면도기로 1 차 제모한 후 크림형 제모제를 바르고 도포용 붓을 사용하여 도포한 후 10분 정도 방치하여 따뜻한 의료용 거즈로 닦아내고 온수로 세척하였다. 그리고 DNCB(Olive oil:acetone=3:1)를 이용해 접촉성 피부염을 일으켰다. 접촉성 피부염이 일어난 생쥐는 2차 실험에서 5마리씩 총 30마리를 실험군인 DNCB+G군, 양성대조군인 DNCB군, 대조군인 Control군, 음성대조군인 O,A군으로 구분하여 실험하였다. 시료 도포는 1차 실험에 1% DNCB 용액을 주 3회 붓을 이용하여 경피 도포하여 피부염을 일으켰다. 2차 실험은 Table 1과 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+G군에만 수돗물 200ml에 제니스테인을 0.2(W/V) 농도로 용해시켰으며, DNCB군, Control군, O,A군 모두 수돗물 200ml 을 동일한 조건으로 자유로이 공급하였다.

2.2 육안적 관찰(외형효과)

실험 시작일로부터 7주 동안 1차와 2차 실험으로 진행하였으며, 1차 실험에서는 경피의 변화가 접촉성 피부염이 진행됨을 확인한 후 2차 실험에 들어갔다. 2차 실험에서는 DNCB+G군, DNCB군, Control군, O,A군 총 4군으로 구분하였고, 주 1회씩 카메라를 이용하여 촬영을 하였다.

2.3 조직학적 분석(Hematoxylin & Eosin)

조직학적인 분석은 실험시작 7주째 생쥐를 경추 도살 시킨 다음 등 피부 부분을 의료용 가위로 적출해 H & E 염색을 다음과 같이 진행하였다. 염색법은 '염기성' 물감인 hematoxylin으로 핵을 염색한 후 다시 산성 물감인 eosin으로 나머지를 염색하는 것이다. 피부조직을 1cm×1cm 크기로 잘라서 10% paraformaldehyde 용액에 12시간 동안 침전하여 고정시킨 후 99% ethanol로 탈수과정을 거친 다음 파라핀에 포맷 하였다. 파라핀에 포맷된 피부조직을 조직절편 제작용 Microtome(Finesse 325; Thermo Scientific), 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 Hematoxylin and Eosin (H&E)염색을 실시하여 광학 현미경으로 검경하였다.

2.4 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.

Table 1. Experimental design

Experimental groups	Treatment	
	0.2% DNCB	Drinking water
Control ¹⁾	No	Tap water
O,A ²⁾	No	Tap water
DNCB-DM ³⁾	3weeks for 4weeks	Tap water
DNCB-DM+G ⁴⁾	3weeks for 4 weeks	0.1 genistein for 3weeks

Control¹⁾: tap water feeding, OA²⁾: Olive oil-acetone control, DNCB³⁾: DNCB application; 0.2% DNCB in olive oil-acetone solution, DNCB+G⁴⁾: 0.1% genistein feeding from 1 week after 0.2% DNCB application.

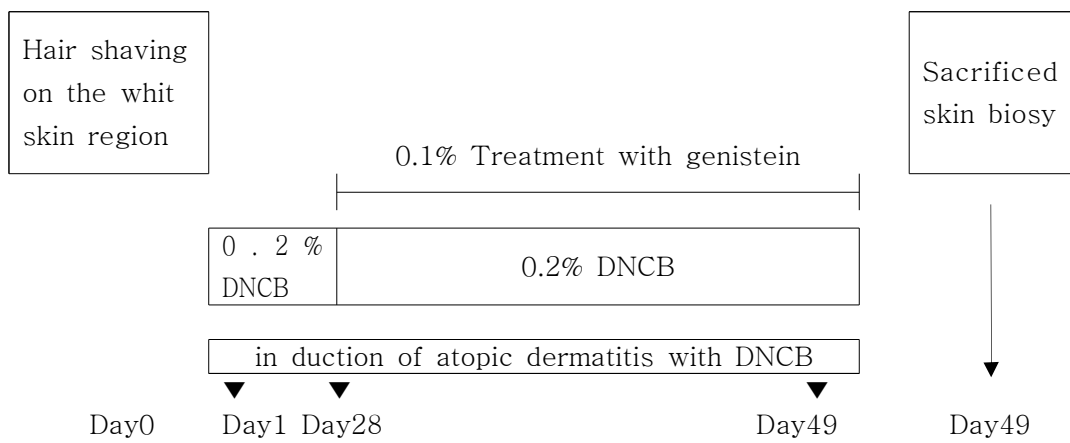


Fig. 5. Experimental protocol for induction of DNCB-dermatitis Genistein administration.

IV. 실험 결과 및 고찰

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

1. 제니스테인이 생쥐에서 DNCB에 의한 염증피부의 육안적 관찰

제니스테인이 모발주기에 어떠한 영향을 미치는지 알아보려고 실험 시작일로부터 5주 동안 1차와 2차 실험으로 진행하였으며, 1차 실험에서는 경피의 변화가 접촉성 피부염이 진행됨을 확인한 후 2차 실험에 들어갔고 1회씩 디지털카메라를 이용하여 촬영을 하였다. 대조군인 Control군과 음성대조군인 O,A군의 피부 증상은 2차 실험 시작일과 실험 시작 3주에 피부를 관찰한 결과 피부의 발진이나 구진 및 가피형성 등의 피부염 증상이 전혀 나타나지 않았다.

DNCB군의 피부 증상은 3주 이후 모두 피부발진, 구진, 습진 및 가피형성 등의 피부 염증이 현저히 개선되었다. 발진부분은 빨갛게 일어나고 피부 갈라짐 현상이 점점 심해져 있었지만 제니스테인 투여 후 피부 갈라짐 현상이 많이 개선이 되고 빨갛게 발진이 일어난 피부도 발진이 거의 없어졌다. 정상 피부까지는 아니지만 DNCB 피부염 증상이 호전됨을 알 수가 있다.



Fig 6. Effects of Genistein on DNCB-induced dermatitis(DNCB) balb/c mice. Control group: Normal mice. Oliveoil-acetone group: mice treated with Olive oil-acetone solution. DNCB (1chloro-2,4-dinitrobenzene) group: mice sensitized with DNCB. DNCB+G group: mice sensitized with DNCB and treated with Genistein

2. 제니스테인 투여가 DNCB 피부염 생쥐의 조직학적 분석

제니스테인 투여가 DNCB 피부염 생쥐의 피부조직 소견에 미치는 영향을 관찰하기 위해 실험시작 7주째에 생쥐를 경추 도살 시키고 피부를 적출하여 고정시켰다. H&E 염색을 한 후 광학현미경으로 관찰한 결과는 Fig 7 과 같다.

DNCB군은 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 DNCB군보다 손상이 더 적은 것으로 나타났다. DNCB+G군은 피부 표피층과 진피층의 경계가 뚜렷하게 보였고, 표피층의 각질층은 Control군보다는 더 얇았으나 전체적으로 나타났다.

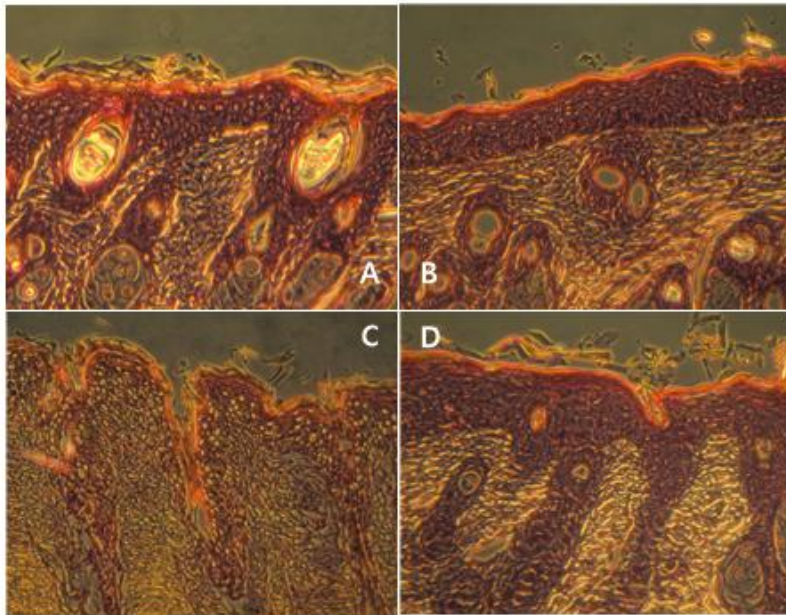


Fig. 7. Histological features of the skin in the dinitrochlorobenzene(DNCB)-treated Balb/c mice at 4 weeks after the start of DNCB administration. A : control; B : Olive oil-acetone ; C : DNCB; D: DNCB+G(Genistein).

3. DNCB 피부염 생쥐의 모발 주기 관련 유전자의 발현 변화

모근 분화과정에서 KRT5, KRT514, KRT516, KRT517 및 KRT519는 outer root sheath 분화에 KRT25, KRT27, KRT28, KRT32, KRT35, KRT71, KRT75 및 KRT85는 inner root sheath 분화에 관여하는 것으로 알려져 있고 결과는 Table 2와 같다. Krt71 유전자 발현은 모근 분화과정에서 inner root sheath 분화에 관여하는 것으로 알려져 있는데, 본 실험에서 대조군에 비하여 DNCB 군에서 발현이 감소되어 모근 inner root sheath 분화에 억제가 있을 것으로 생각되고, Krt14 유전자 발현은 모근 분화과정에서 outer root sheath 분화에 관여하는 것으로 알려져 있는데(77), 본 실험에서 대조군에 비하여 DNCB 군에서 발현이 증가되었고, DNCB+G군에서 발현이 감소되어 모근분화의 장애로 인한 변화의 결과로 추측된다. Dsg4 는 모낭에서 발현되어 모발의 피질 분화를 조절하는 것으로 알려져 있는데(78), 본 실험에서 대조군에 비하여 DNCB 군에서 발현이 감소되어 DNCB 군에서 모낭에서 모발의 피질분화가 억제되고, DNCB+G군에서 발현이 증가되어 모발 피질의 분화가 회복된 것으로 생각된다.

Msx2 단백질은 모낭의 재생에 관여 하는 것으로 알려져 있는데(79), 본 실험에서 대조군에 비하여 DNCB 군에서 발현이 감소되어 DNCB 군에서 모낭의 재생이 감소된 것으로 생각되고, DNCB+G군에서 발현이 증가되어 모낭의 재생이 증가된 것으로 생각된다. keratin associated protein은 모발분화과정에서 keratin 사이에 끼어 들어가는 단백질로서 모발의 강도나 유연성에 중요한 역할을 하는 단백질로서(80), 본 실험에서 대조군에 비하여 DNCB 군에서 keratin associated protein 4-16(Krtap4-16) 발현이 감소되어 모발 분화에 억제가 있을 것으로 생각되고, DNCB+G군에서 발현이 증가되어 모발 분화가 회복될 것으로 생각된다. Ptch2 단백질은 미분화 모낭세포에서 발현 되는데(81), 본 실험에서 대조군에 비하여 DNCB 군에서 발현이 감소되어 DNCB 군에서 미분화 모낭이 감소된 것으로 생각되고, DNCB+G군에서 발현이 증가되어 미분화 모낭이 증가된 것으로 생각된다. Hoxc13 은 모발주기 성장기(anagen) 초기부터

catagen 전까지 모낭세포에서 케라틴의 합성을 조절하는 것으로 알려져 있는데(82), 본 실험에서 대조군에 비하여 DNCB 군에서 발현이 감소되어 DNCB 군에서 모낭세포에서 케라틴 합성이 억제되고, DNCB+G군에서 발현이 증가되어 케라틴 합성이 회복된 것으로 생각된다. Forkhead box Q1(Foxq1)과 forkhead box N1(Foxn1)은 Hoxc13의 target gene으로서 모낭주기에 관여하는데(83), 본 실험에서 대조군에 비하여 DNCB 군에서 Foxq1과 Foxn1 발현이 감소되어 DNCB 군에서 모낭세포에서 케라틴 합성이 억제되고, DNCB+G군에서 발현이 증가되어 케라틴 합성이 회복된 것으로 생각된다. DNCB+G군에서 발현이 증가되어 모근의 분화가 회복될 것으로 생각되고 결과는 Table 4와 같다.

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

Gene	Counts (average)		log ₂ (FC)	P value
	Control	DNCB		
Krt71	3901.94	119.64	-5.02	0.023
Dsg4	19.11	2.50	-2.93	0.001
Msx2	82.28	4.31	-4.25	0.001
Krtap4-16	271.35	41.36	-2.71	0.001
Ptch2	21.41	2.12	-3.33	0.001
Krt14	2776.25	16858.60	2.60	0.049
Hoxc13	121.09	21.07	-2.52	0.001
Foxq1	36.42	13.08	-1.47	0.019
Foxn1	45.65	11.89	-1.94	0.002

DNCB : DNCB dermatitis, Krt71 : keratin 71, Dsg4 : desmoglein 4, Msx2 : msh homeobox 2, Krtap4-16 : keratin associated protein 4-16, Ptch2 : patched 2, Krt14 : keratin 14, Hoxc13 : homeobox C13, Foxq1 : forkhead box Q1, Foxn1 : forkhead box N1.

Table 3. Select skin transcripts related to hair cycle in genistein treated DNCB-dermatitic mice by RNA-seq analysis.

Gene	Counts (average)		log2(FC)	P value
	DNCB	DNCB+G		
Krt71	119.64	6571.75	5.77	0.001
Dsg4	2.17	34.45	3.98	0.001
Msx2	5.35	112.89	4.39	0.001
Krtap4-16	42.62	879.51	4.36	0.001
Ptch2	2.23	18.91	3.08	0.001
Krt14	16858.60	916.39	-4.20	0.001
Hoxc13	20.18	113.75	2.49	0.001
Foxq1	13.08	78.51	2.58	0.001
Foxn1	11.89	68.91	2.53	0.001

Krt71 : keratin 71, Dsg4 : desmoglein 4, Msx2 : msh homeobox 2, Krtap4-16 : keratin associated protein 4-16, Ptch2 : patched 2, Krt14 : keratin 14, Hoxc13 : homeobox C13, Foxq1 : forkhead box Q1, Foxn1 : forkhead box N1.

4. DNCB 피부염 생쥐의 멜라닌 생합성 관련 유전자의 발현 변화

keratin 81(Krt81)과 keratin 87(Krt87) 은 모발을 구성하는 type II keratin 으로(84), 본 실험에서 대조군에 비하여 DNCB 군에서 Krt81과 Krt87 발현이 감소되어 DNCB 군에서 모발성장이 억제되고, DNCB+G군에서 발현이 증가되어 모발 성장이 회복된 것으로 생각된다. Dsg4 는 모발(hair shaft)의 피질 분화를 조절하는 것으로 알려져 있는데(85), 본 실험에서 대조군에 비하여 DNCB 군에서 발현이 감소되어 DNCB 군에서 모발의 피질분화에 이상이 나타나서 모발성장이 억제될 것으로 생각되고, DNCB+G군에서 발현이 증가되어 모발 피질의 분화되어 모발성장이 회복되어 된 것으로 생각된다. Hoxc13 은 모발주기 성장기(anagen) 초기부터 catagen 전까지 모낭세포에서 케라틴의 합성을 조절하는 것으로 알려져 있는데(86), 본 실험에서 대조군에 비하여 DNCB 군에서 발현이 감소되어 DNCB 군에서 모발 케라틴 합성이 억제되고, DNCB+G군에서 발현이 증가되어 모발 케라틴 합성이 회복된 것으로 생각된다. Desmogleins (Dsg)은 표피세포의 사이를 연결시키는 연결고리(intercellular adhesion junctions)인 desmosomes을 구성하는 주요 세포막 단백질로서 세포의 분화조절에 관여하는 것으로 알려져 있는데(87), 본 실험에서 대조군에 비하여 DNCB 군에서 발현이 증가되어 DNCB 군에서 모낭세포의 분화에 이상이 나타날것으로 생각되고, DNCB+G군에서 발현이 감소되어 모낭세포의 분화에 의한 모발 케라틴 합성이 회복된 것으로 생각된다. Apccdd1 은 모발주기 초기에 Wnt signalling을 억제하여 모낭세포 분화를 조절하는 것으로 알려져 있는데(88), 본 실험에서 대조군에 비하여 DNCB 군에서 발현이 감소되어 DNCB 군에서 모낭세포 분화에 이상이 나타나서 모발성장에 장애가 일어날 것으로 생각되고, DNCB+G군에서 발현이 증가되어 모발 성장이 회복된 것으로 생각되고 Table 5와 같다.

Arachidonate 12-lipoxygenase(Alox12)를 억제시키면 는 모낭의 주기에 이상이 나타나는데(89), 본 실험에서 대조군에 비하여 DNCB 군에서 Alox12b 발현

이 증가되어 DNCB 군에서 모발성장에 장애가 나타날 것으로 생각되고, DNCB+G군에서 발현이 증가되어 모발 성장이 회복된 것으로 생각된다.

Table 4. Select skin transcripts related to hypotrichosis in genistein treated DNCB-dermatitic mice by RNA-seq analysis

Gene	Counts (average)		log ₂ (FC)	P value
	DNCB	DNCB+G		
Krt87	19.29	1207.09	5.96	0.001
Krt81	33.04	2643.65	6.32	0.005
Dsg4	1.03	45.23	5.44	0.001
Hoxc13	17.87	135.92	2.92	0.001
Dsg1b	48.38	4.04	-3.58	0.001
Apcdd1	9.82	48.12	2.29	0.001
Alox12b	54.93	1.25	-5.44	0.001

Krt87 : keratin 87, Krt81 : keratin 81, Dsg4 : desmoglein 4, Hoxc13 : homeobox C13, Dsg1b : desmoglein 1 beta, Apcdd1 : adenomatosis polyposis coli down-regulated 1, Alox12b : arachidonate 12-lipoxygenase, 12R type.

Table 5. Select skin transcripts related to hypotrichosis in genistein treated DNCB-dermatitic mice by RNA-seq analysis

Gene	Counts (average)		log ₂ (FC)	P value
	DNCB	DNCB+G		
Krt87	19.29	1207.09	5.96	0.001
Krt81	33.04	2643.65	6.32	0.005
Dsg4	1.03	45.23	5.44	0.001
Hoxc13	17.87	135.92	2.92	0.001
Dsg1b	48.38	4.04	-3.58	0.001
Apcdd1	9.82	48.12	2.29	0.001
Alox12b	54.93	1.25	-5.44	0.001

Krt87 : keratin 87, Krt81 : keratin 81, Dsg4 : desmoglein 4, Hoxc13 : homeobox C13, Dsg1b : desmoglein 1 beta, Apcdd1 : adenomatosis polyposis coli down-regulated 1, Alox12b : arachidonate 12-lipoxygenase, 12R type.

V. 결론 및 제언

제니스테인이 DNCB에 인위적으로 유발시킨 접촉성 피부염 증상에서 모발주기에 어떠한 영향을 미치는지 알아보려고 하였다. 육안적인 관찰에서 DNCB+G군이 Control군에 비해 피부염 증상은 있지만 DNCB군보다 매우 호전됨을 확인하였고, H & E 염색에서도 DNCB+G군이 DNCB군 보다 정상군인 Control군에 가까운 표피와 모낭 형태를 확인하였다.

1. 육안적인 관찰에서 DNCB+G군이 Control군에 비해 피부염 증상은 있지만 DNCB군보다 매우 호전됨을 확인하였다.
2. 조직학적 분석에서 DNCB+G군이 DNCB군 보다 정상군인 Control군에 가까운 표피와 모낭 형태를 확인하였다.
3. DNCB군에서 대조군에 비하여 hair cycle 관련 유전자 Krt71, Dsg4, Msx2, Krtap4-16, Ptch2, Hoxc13, Foxq1 및 Foxn1 mRNA 량이 감소되었고, Krt14 mRNA 량이 증가되었다.
3. DNCB+G 군에서 DNCB군에 비하여 hair cycle 관련 유전자 Krt71, Dsg4, Msx2, Krtap4-16, Ptch2, Hoxc13, Foxq1 및 Foxn1 mRNA 량은 증가되었고, Krt14 mRNA 량은 감소되었다.

결론적으로 Genistein 투여는 DNCB 피부염의 증상 개선에 도움이 되며, 모발 관련 유전자 발현 변화는 피부염으로 인해서 야기되는 모발의 주기나 성장의 장애의 개선에 도움이 될 것으로 생각된다. 어떠한 기전에 의해서 유전자 발현의 변화가 일어나는지에 대해서는 추후 지속적인 연구가 있어야 할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Kim PG, A Study on the Factors Affecting the Development Headache and Wooling Products, Master's thesis for Sookmyung Women's University Remote Graduate School, p. 1, 2010.
2. Kim CH, Park OR, Headache, Hair Attitude and Management Behavior, Kyung Sung University Department of Clothing, Master's thesis, p. 575, 2015.
3. Im SJ, Philosophy dictionary, seoul : Middle culture Major in Cosmetic and Beauty, pp. 2~4, 2009.
4. Jin RH & Chang MH, Awareness followed in Usage of Professional Cosmetics in Skin Care Parlors and Ordinary Cosmetics by Women in Their 40s and 50s. Korean Society of Human Body Arts, 12(1), 114, 2011.
5. Shin SS, a female college student and a non-commissioned female college student's awareness of scalp. hair and management practice of scalp. hair, and J. Korea Society, a professor of beauty coordination at Keimyung Culture University, and J. Korea Society Art, Vol. 20, No. 2, 2019.
6. Simpson EL, Atopic dermatitis: a review of topical treatment options. Current medical research and opinion, 26(3), 633-640. DOI: 10.1185/03007990903512156, 2010.
7. Jang HJ, The Influence of the Severe Intensity of Atopic dermatitis Children and the Social Psychological Factors of Parents on the Quality of Family Life, Master's thesis for Inha University Graduate School, p. 2,

- 2015.
8. Na YH, Choi SH, Risk factors associated with the onset of atopic dermatitis. Journal of the Korean Asthma Allergy Society, 19 (2), 91-94, 2009.
 9. Lim KM, Effects of Samsam on Atopic dermatitis in Mice Caused by DNCB:Atopic, Dongshin University Graduate School Master's thesis, p. 1, 2016.
 10. Park GM, Effects of Rice Straw on the allergic sex dermatitis of mice caused by DNCB. Dongshin University Graduate School Master's thesis, p. 3, 2013.
 11. Soybeans Health: New Alternatives for the Suppression and Treatment of Pancreatic Cancer, Korean Society for the Study of Soybean, Vol. 237, p6-86, 2006.
 12. Kang TJ, Lee SR, cause and treatment management of atopic dermatitis. BioWave. p 12, 3, 2010.
 13. Ryu EM. The Effects of Milsack Extracts on Hair Growth, Chosun University's School of Beauty Faculty, p. 2, 2013.
 14. Kim DH, Clinical analysis of autoclave skin response test in patients with atopic dermatitis, : Total IgE, MAST, and the link between severe and infectious period in autoclave skin reaction test results in patients with atopic dermatitis, p. 1, 2016.
 15. Park SA, the effect of wheat sprouts on the growth of human motherhood and fibroids and signalling related to hair growth, the doctoral thesis of Wonkwang University's Graduate School of Public Studies, p. 1, 2017.
 16. Kim JY, The impact of extracts from main ingredients and Ha Ha Ha-oh on the growth promotion and activation of hair, Ph.D. at

- Dongbang College of Culture and Science and Technology, P. 23, 2019.
17. Jang NN, Influence of lateral thyroletal extract on the promotion of hair growth in C57BL/6N mice in the waste period, Master's thesis of Konkuk University Graduate School, p. 3, 2013.
 18. Kim YS, Kim JY. 2006. A study on hair care of alopecia man and stress Korean Society of Esthetic & Cosmeceutics 1:67-78
 19. Finn, D.A., Beadles-Bohling, A.S., Beckley, E.H., Ford, M.M., Gililland, K.R., Gorin-Meyer, R.E., Wiren, K.M. . A new look at the 5alpha-reductase inhibitor finasteride. CNS Drug Reviews 12, 53-76, 2006.
 20. Rumsfield JA, West DP, Fiedler-Weiss V.C, Topical minoxidil therapy for hair re-growth. Clin. Pharm.. 6, no. 5:-49 54-67. 1987.
 21. Joo BH, fine in C57BL/6N mouse hair loss model Effects of Rye Bed and Youngji Extraction on Hair Growth, P. 2, 2013.
 22. Yusur AN, Baier G, Watson REB, Chuong CM, Paus R, The cycling hair follicle as an ideal systems biology research model. Experimental Dermatology 19:707-713, 2010.
 23. Do YB, Song YS, Fanma Ethanol extracts, atopic dermatitis inhibitory effect, Daejeon University School of Health and Medical School professor, Ph.D. in medicinal crops at Dongbang College of Culture, 2019.
 24. Lee JS, "Effect to promote hair growth in Chinese herbal medicine extract," Keimyung University, Seokhak University, 2008.
 25. Park JH, "Study on Cell Toxicity of Artemisia Capillaris," Sung Kyun Kwan University's Master's Degree thesis, 2007
 26. Kim GR, "The Influence of Hanryeoncho Extraction and MTS on Hair loss and scalp improvement of workers in their 20s and 30s," Konkuk University's Master's Degree thesis, 2011.
 27. Woo YO, "The Effects of Insam, Sansuyu and Seokchangpo on Damage

- Hair," Hansung University's Master of History, 2007.
28. Kim JH, "Phenolous compound and COX-2, iNOS inhibitory effect of pine needles," Chung-Ang University's master's degree thesis, 2002.
 29. Choi WJ, "A Study on the Effect and Satisfaction of the Quality Improvement of the Head Hair by the Processing of Atery Australian Extracts," a doctoral dissertation from Konkuk University, 2010.
 30. Ryu EM. The Effect of Starch Extract on Hair Growth, a Ph.D. dissertation from Chosun University Graduate School, 2014.
 31. Kim OK, anti-diabetic effect of yellow-gi ethanol extract, food and nutrition department of Daejin University of Science and Technology, 2019.
 32. Kim MH, Ji SY, Lee YS, Effects of ingestion of fats and genistines on lipid metabolism and antioxidants in and high fat diet induced hyperlipidemia model white rats, and the Institute of Food and Nutrition and Living Sciences at Seoul National University, 39(2), 100-108, 2006.
 33. Na EJ, A Study on the Biological Activity of Bio-conversion Soybean Extracts, Konkuk University Graduate School: Master's thesis in Biotech Cosmetic Biology, p. 7. 2013.
 34. Park EK. The effect of Genistein intake on early stages of the wound healing process, Master's thesis on graduate family studies and nutrition science at Chung-Ang University, p. 41, 2011.
 35. Emmerson E, Campbell L, Ashcroft S. G, Hardman M. J, The phytoestrogen genistein promotes wound healing by multipleindependent mechanisms 321(2), 184, 2010.
 36. Choi DJ, The Influence of Zenistin Cyclodextrin on Antimicrobial and Skin Barriers on the Antivitis and Skin Barriers in the Adjacenta of the University of Semyung Cosmetics, p. 9, 2019.

37. Afaq, F. and H. Mukhtar. Botanical antioxidants in the prevention of photocarcinogenesis and photoaging. *Exp. Dermatol.* 15: 678-684, 2006.
38. C. Spagnuolo, G. L. Russo, I. E. Orhan, S. Habtemariam, M. Dagli, A. Sureda, S. F. Nabavi, K. P. Devi, M. R. Loizzo and R. Tundis and S. M. Nabavi, Genistein and cancer: current status, challenges, and future directions, *Adv. Nutr.* 6(4), 408, 2015.
39. Jung HS, Park JY. The hair growth effect of mulberry extract in C57BL/6 house, the Joseon Dynasty's annual science paper, Volume I, p. 16, 2008.
40. Lee HK, Lee DM, Choi JE. Baek YW. Kim MH, .Ha CW, human anatomy, consultant, pp. 400~402, 2004.
41. Kim MO, A Study on the Damage Factors of Hair and Headpiece, Chosun University Beauty Design and Master's thesis, p. 6, 2002.
42. Kim MS, Kim JH. Hwang CH, a wiring scent Yuju. Stop. Recent Hee. Hair Color Design, Do Seo Chool-rim, p12-33, 2003.
43. Omatilda, A study on the protection effect of hair treatment using and jojoba oil, Incheon University's Department of Beauty Industry, , Master's thesis, 2019.
44. Kwak HS, Kim SW, Song HR. Yoo YJ, Lee CH, Art of Hair Color, Billing Culture History, pp. 14-25, 2009.
45. Kim JS, A Study on the Change of Hair Properties by Pre- and Post-treatment Methods in Hair Dyeing ,A Master's thesis on the Department of Beauty and Arts at Sogang University's Graduate School of General Studies. 2017.
46. Kim JH, A Study on the Chemical and Physical Improvement of Hair and Dongchung-Chop Extracts, Chosun University Graduate School

- of Industry, p. 14, 2012.
47. Yang JY. self-diagnosis and recognition of hair loss for adult male and female scalp, Master's thesis on Wonkwang University's Graduate School of Public Studies, p. 32, 2010.
 48. Piao YJ, Seo EY, Kim JS. The influence of Testosteron Propionate in the Expression of Seceral Growth Fact or sin Human Scalp Dermal Papill a Cell. Journal of Inverstigative Dermatology-509: 29-34, 2002.
 49. LatorreC.A, Nanotribo logicalcharacterization of human hairand skin using atomic for cemicroscopy(AFM).Theohiostate university. 2005.
 50. Chun JY, A Study on the Variation of the Head according to the Absorption Method of the Thickness Amplifier for Adult Women, Journal of the Master of Media Beauty at the Smart Fusion Institute at Kwangwoon University , p. 5, 2018.
 51. Seo SO, The effect of scalp tonic and MTS on scalp·hair condition, Dept. of Beauty Art Graduate School of Social Education Sookmyung- 86 Women's University, pp. 4-5, 2012.
 52. Park BN, Kang HJ, Kim KH, Kim ES, Kim JS, and the Study on the Change of the Dupee Home Kae Family in Adult Women's Degree of Convergence Industry, U.S. Dr. Yong-Hak, p. 43, 2019.
 53. Kim NY, A Study on the Effect of Oral Gate Extract on Cell Physiological Activation and Men's Head, Konkuk University Graduate School of Biotechnology, p. 10, 2016.
 54. 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.
 55. Kang JJ, Headache Management Status Analysis, Beauty and Beauty

- Studies, Sungshin Women's University School, p. 3, 2018.
56. Koo EJ, An analysis of influence factor of adults using self diagnosis about hair loss and stress, M. S. Tesis, Nambu University, 2012.
 57. Park YM, A Study on the Development of Functional Cosmetics and Nutrition Materials of Yellow-Chilled Leaf Extracts. Nambu University Graduate School of Beauty Hairdresser's, p. 17, 2017.
 58. Ryu SY, Im Mi-hye, The effect of hair loss management programs on the stress of hair loss men. Journal of the Institute of Basic Science, Vol. 25 of Natural Science
 59. Purba, T. S. Brunken, L. Peake, M., Shahmalak, A. Chaves, A., Poblet, E., Ceballos, L. Gandarillas, A. and Paus, R. Characterisation of cell cycle arrest and terminal differentiation in a maximally proliferative human epithelial tissue: Lessons from the human hair follicle matrix. Eur. J. Cell Biol. 96, 632-641, 2017.
 60. Ahn SG, Ji HG, Hwang SM, Jung J, Jang KH. Common Skin Disease. Pacific publisher. p. 437, 2003.
 61. Ko HR, The effect of the combination of Ouong Root and Yellow-chilled Leaf Fermented Liquid on the Hair Growth of C57BL/6 Mouse: Master's thesis at the Graduate School of Industrial Technology Convergence, 2017.
 62. Kang IW, Go UX, Yun HJ, the latest trend in the treatment of hair loss Journal of Oriental Medicine and Dermatology 28 : 12-28. 2015.
 63. 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.
 64. Kim JH, "A Study on Customer Satisfaction and Development of Head

- Skin and Hair Management Room," Master's Degree, of Sookmyung Women's University, p. 6, 2005.
65. Na YY, the effect of the onion skin extract on hair dye and mouse skin, the master's thesis on biology at Chosun University, p. 6, 2007.
 66. Park SI, Ahn Gyu-min, Kim MK, Heo SH, Shin MS, Lee PJ, with Skin Transfusion Peptide Improves Skin Absorption of Peptide GHKs, Vol. 36 No. 3, 853-865 pages, All 13 pages, 2019.
 67. Yoon HH, Study on In vitro Toxicity Response Test Using Artificial Skin, Dongguk University Graduate School, p. 13, 1999.
 68. Lee JY, The Effects of on the Improvement of Headache through the Education of Hair Closing by Occupational Soldiers, the Department of Industrial Hagwon Hyangjang at Konkuk University, Konkuk University
 69. Lee HW, the effect of osteoporosis on men's skin, Konkuk University's School of Industrial Science, p. 3, 2012.
 70. Park GH, The Influence 荊防敗毒散 on the Allegy dermatitis in Mice Caused by DNFB, Dr., P. 1, 2014.
 71. Kim JU, a comparative analysis of the positive rate according to the reading date of the test (TRUE test) in patients with allergic contact dermatitis, p. 2, 2011.
 72. Ganai AA, Farooqi H. Bioactivity of genistein: A review of in vitro and in vivo studies. Biomed Pharmacother. 2015 76:30-38.
 73. Hall G, Phillips TJ. Estrogen and skin: The effects of estrogen, menopause, and hormone replacement therapy on the skin. J Am Acad Dermatol. 2005 53:555 - 568.
 74. Verdier-Sevrain S, Bontè F, Gilcrest B. Biology of estrogens in skin: Implications for skin aging. Exp Dermatol. 2006 15:83 - 94.
 75. Kuiper G.G., Lemmen J.G., Carlsson B., Corton J.C., Safe S.H., van der

- Saag P.T., van der Burg B., Gustafsson J.A. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. *Endocrinology*. 1998 139:4252 - 4263.
76. Thornton MJ. The biological actions of estrogens on skin. *Exp Dermatol*. 2002 11:487 - 502.
77. Morgan HJ, Benketah A, Olivero C, Rees E, Ziaj S, Mukhtar A, Lanfredini S, Patel GK. Hair follicle differentiation-specific keratin expression in human basal cell carcinoma. *Clin Exp Dermatol*. doi: 10.1111/ced.14113. 2019.
78. Bazzi H, Demehri S, Potter CS, Barber AG, Awgulewitsch A, Kopan R, Christiano AM. Desmoglein 4 is regulated by transcription factors implicated in hair shaft differentiation. *Differentiation*. 78(5):292-300. 2009.
79. Hughes MW, Jiang TX, Plikus MV, Guerrero-Juarez CF, Lin CH, Schafer C, Maxson R, Widelitz RB, Chuong CM. Msx2 Supports Epidermal Competency during Wound-Induced Hair Follicle Neogenesis. *J Invest Dermatol*. Sep;138(9):2041-2050. 2018.
80. Fraser RDB, Parry DAD. Trichocyte Keratin-Associated Proteins (KAPs). *Adv Exp Med Biol*. 2018 1054:71-86.
81. 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. *Arch Dermatol Res*. 293(9):435-441. 2001.
82. Jave-Suarez LF, Winter H, Langbein L, Rogers MA, Schweizer J. HOXC13 is involved in the regulation of human hair keratin gene expression. *J Biol Chem*. 277(5):3718-3726. 2002.
83. Potter CS, Pruett ND, Kern MJ, Baybo MA, Godwin AR, Potter KA,

- Peterson RL, Sundberg JP, Awgulewitsch A. The nude mutant gene *Foxn1* is a *HOXC13* regulatory target during hair follicle and nail differentiation. *J Invest Dermatol.* 131(4):828-837. 2011.
84. Moll R, Divo M, Langbein L. The human keratins: biology and pathology. *Histochem Cell Biol.* 129(6):705-733. 2008.
85. Bazzi H, Demehri S, Potter CS, Barber AG, Awgulewitsch A, Kopan R, Christiano AM. Desmoglein 4 is regulated by transcription factors implicated in hair shaft differentiation. *Differentiation.* 78(5):292-300. 2009.
86. Jave-Suarez LF, Winter H, Langbein L, Rogers MA, Schweizer J. *HOXC13* is involved in the regulation of human hair keratin gene expression. *J Biol Chem.* 277(5):3718-3726. 2002.
87. Pulkkinen L, Choi YW, Kljuic A, Uitto J, Mahoney MG. Novel member of the mouse desmoglein gene family: *Dsg1-beta*. *Exp Dermatol.* 12(1):11-19. 2003.
88. Viale-Bouroncle S, Klingelhöffer C, Ettl T, Morsczeck C. The WNT inhibitor *APCDD1* sustains the expression of β -catenin during the osteogenic differentiation of human dental follicle cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 457(3):314-317. 2015.
89. Kizawa K, Fujimori T, Kawai T. Arachidonate 12-Lipoxygenase Inhibitors Promote S100A3 Citrullination in Cultured SW480 Cells and Isolated Hair Follicles. *Biol Pharm Bull.* 2017 40(4):516-523.

감사의 글

대학원 석사과정에서 논문이 나오기 까지 많은 분들의 도움을 받았습니다. 논문을 쓰면서 참 너무 감사한 분이 생각이 나는데 이 글을 쓰자하니 표현할 수 없는 감사함과 이 순간이 참으로 낯설기만 합니다.

과연 논문을 무사히 잘 쓸수 있을까 제 자신부터 의구심이 들었지만 류은미 지도 교수님의 가르침으로 석사학위 논문을 무사히 쓸 수 있었던 것 같습니다. 부족한 저에게 아낌없는 조언과 용기를 주시고 방향성을 잃어가지 않도록 정신적으로 도움을 주신 지도교수님께 너무너무 감사할 뿐입니다. 학업과 직장생활을 병행하는 것이 쉽지 않았지만 교수님께서 항상 바르게 공부할 수 있게 해주시고 나약해 질 때마다 늘 응원해 주셔서 힘이 되었습니다. 힘들게 논문을 구성해 가면서 길잡이가 되어주신 지도 교수님의 조언들이 늘 보탬이 되었고 인내와 용기 그리고 끌고 나가는 힘을 알 수 있었습니다. 지도교수님께 보답할 수 있는 방법은 교수님의 지도 받는 제자로서 앞으로 더욱 발전 있는 연구를 하는 제자가 되는 것임을 알게 되었습니다. 꼼꼼한 손길로 지도 해주신 류은미 교수님 정말 감사드립니다. 바쁘신 와중에도 따뜻한 격려와 조언을 해주신 이병래 교수님과 이중헌 교수님께도 진심으로 감사의 마음을 전합니다.

저작물 이용 허락서

학 과	미용향장학과	학 번	20118418	과 정	석사
성 명	한글 : 장은정 한문 : 張恩禎 영문 : EUNJUNG JANG				
주 소	전라남도 곡성군 옥과면				
연락처					
논문제목	한글 : DNCB에 의한 피부염 생쥐의 모발주기와 모발성장에 미치는 genistein의 영향				
	영문 : Effect of genistein on hair cycle and hair growth in DNCB-induced dermatitis mice				

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건 아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다 음 -

1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함.
2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집과 형식상의 변경을 허락함. 다만, 저작물의 내용변경은 금지함.
3. 배포·전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함.
4. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사 표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.
5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함.
6. 조선대학교는 저작물 이용의 허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음.
7. 소속 대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송·출력을 허락함.

동의여부 : 동의(●) 반대()

2019년 11월

저작자 장은정 (인)

조선대학교 총장 귀하