

## 연화바위솔의 모유두 세포 증식 효능

강정일, 김상철, 현재희, 부혜진, 홍지영, 유은숙, 강희경

제주대학교 의학전문대학원 약리학교실

## Abstract

Effect of *Orostachys iwarenge* Hara on the proliferation of dermal papilla cells

Jung-Il Kang, Sang-Cheol Kim, Jae-Hee Hyun, Hye-Jin Boo, Ji-Young Hong, Eun-Sook Yoo, Hee-kyoung Kang

Department of Pharmacology, Jeju National University School of Medicine, Jeju, Korea

In this study, we investigated the hair-growth effect of plants growing in Jeju by the proliferation of dermal papilla cells. Dermal papilla cells are specialized mesenchymal cells that located at the bulb region of hair follicles. The cells play crucial roles in hair formation, growth, and cycling. When immortalized vibrissa dermal papilla cells were treated with several extracts, the extract of *Orostachys iwarenge* Hara increased proliferation of immortalized vibrissa dermal papilla cells. These results suggest that *O. iwarenge* extract has the potential to promote hair growth via the proliferation of dermal papilla. (J Med Life Sci 2010;7:139-142)

Key Words : Hair growth, *Orostachys iwarenge*, Hara, Dermal papilla cells

## 서론

최근 몇 십년 동안 탈모 치료를 위한 많은 연구가 진행되고 있지만, 아직도 탈모의 원인이 무엇인지는 정확히 알려져 있지 않다. 지금까지 밝혀진 탈모요인에 대한 내용을 살펴보면, 모발 주기 조절과 관련된 dermal papilla의 증식억제 또는 기능저하<sup>1)</sup>, 남성호르몬의 작용에 의한 모발주기의 비정상화<sup>2)</sup>, 두피로의 혈류량 저하로 인한 모발주기의 비정상적 변화<sup>3, 4)</sup>, 정신적 스트레스, 물리적 자극, 및 환경오염 등<sup>5, 6)</sup>이 거론되고 있다. 현재 모발성장을 촉진하는 약물로 미국식품의약국(Food and Drug Administration, FDA)의 승인을 받은 것으로서 minoxidil 과 finasteride가 잘 알려져 있다. minoxidil은 처음에 고혈압 치료를 위한 혈관확장제로 개발되었으나, 부작용으로 다모증이 보고되면서 발모제로 개발되었다. minoxidil의 발모효과에 대한 작용 기전은 현재까지 명확히 밝혀지지 않았지만, 혈관확장을 통한 영양공급 증가 및 potassium channel opening 효과 등이 모발 성장을 유도하는 것으로 생각되고 있다<sup>7, 8)</sup>. 또한 Merck에서 개발한 finasteride는 남성호르몬 대사에 작용하는 효소인 5 $\alpha$ -reductase의 활성을 억제시키는 물질로서 전립선 비대증 치료제

로 개발되었으나 모발의 성장을 촉진시킴이 알려지면서 발모제로 개발되었다<sup>9)</sup>. 최근 다양한 연구기관에서 육모 및 탈모 이전에 관여하는 많은 조절 인자들에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 특히 성장기, 퇴행기, 휴지기의 모발주기에 관련된 여러 인자들과 그들의 수용체에 의한 신호전달에 의해 조절됨이 계속적으로 보고되고 있다. 예를 들어 FGF family 및 FGFR<sup>10-12)</sup>, IGF 및 IGF-IR<sup>13-15)</sup>, TGF- $\beta$  및 TGF- $\beta$ <sup>16-18)</sup> 등의 성장인자들이 dermal papilla의 활성을 촉진 또는 억제하여 모발주기에 영향을 미치는 것으로 보고되고 있으며 또한 bulge region에 있는 hair follicle stem cells의 증식 또는 분화에서 Wnt pathway 및 Bmp signaling이 결정적으로 작용함이 밝혀지고 있다<sup>18-20)</sup>. 특히 중배엽 유래의 dermal papilla cells은 cell number 및 size가 모발주기 중 성장기인 anagen에서 증가하여 모발 성장의 조절에서 중요한 역할을 한다는 것이 보고되어 있다<sup>1, 21)</sup>.

참가시나무(*Quercus salicina* BL.), 돌가시나무(*Rosa wichuraiana* CREP.), 개서어나무(*Carpinus tschonoskii* MAX.) 및 연화바위솔(*Orostachys iwarenge* Hara)은 제주자생식물로서, 각각 antioxidative<sup>22)</sup>, purgative activity<sup>23)</sup>, cytoprotective activity<sup>24)</sup> 및 antibacterial effect<sup>25)</sup>들이 보고되어 있으나 육모 효능에 대한 연구 및 보고는 거의 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 제주에 자생하는 여러 식물들의 육모 효능을 dermal papilla cells의 증식으로 조사하여 발모치료제로 이용할 수 있는 근거를 마련하고자 하였다.

Address for correspondence : Hee-Kyoung Kang  
Department of Pharmacology, Jeju National University School of Medicine, 66 Jeju-daehakno, 690-756, Jeju, Korea  
E-mail : pharmkhh@jejunu.ac.kr

## 재료 및 방법

### 1. 재료

실험재료인참가시나무 및 개서어나무는 제주생물종다양성 연구소에서 파우더 형태로 공급 받았다. 돌가시나무 및 연화바위솔은 서귀포 해안가 및 해안가 바위에서 채집하였고, 건조후 갈아서 미세말로 만들었다. 시료를 각각 80% EtOH로 추출 후 여과하여 감압 농축하였다. 모든 시료는 에탄올 및 PBS (1:1)로 녹여 실험에 사용하였다.

### 2. Dermal papilla cell의 증식 효능

Rat vibrissa immortalized dermal papilla cell<sup>26)</sup>을 100 units/ml penicillin-100 µg/ml streptomycin (Gibco Inc. NY, USA)과 10% heat-inactivated fetal bovin serum (FBS; Gibco Inc. NY, USA)이 함유된 DMEM (Hyclone Inc. USA) 배지를 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 항온기에서 배양하였으며, 3 일에 한 번씩 계대배양 하였다. Rat vibrissa immortalized dermal papilla cell의 증식은 MTT assay를 이용하여 측정하였다. Dermal papilla cells (1.0 × 10<sup>4</sup> cells/ml)를 96 well plate에 넣고 24시간 배양 후 serum-free DMEM 배지로 교환하여 다시 24 시간 배양한 다음 연화바위솔, 참가시나무, 돌가시나무 및 개서어나무 각각의 추출물을 1, 5 및 25 µg/ml의 농도로 처리하였다. 양성 대조군인 minoxidil sulfate (Sigma, USA)는 1 µg/ml의 농도로 처리하였다. 4 일 동안 배양한 후 50 µl의 MTT (Sigma, MO, USA)을 첨가하고 4 시간 동안 반응시켰다. 상층액은 제거하고 DMSO 200 µl을 가하여 침전물을 용해시킨 후 microplate reader (Amersham Pharmacia Biotech, NY, USA)를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료군에 대한 평균 흡광도 값을 구하였으며, 대조군의 흡광도 값과 비교하여 증식 정도를 조사하였다<sup>27)</sup>.

### 3. 통계분석

모든 측정결과는 평균 ± 표준오차로 나타내었으며, 통계학적 유의성 검정은 student's t test으로 검정하였으며, P value가 0.05이하일 경우 유의성을 인정하였다.

## 결 과

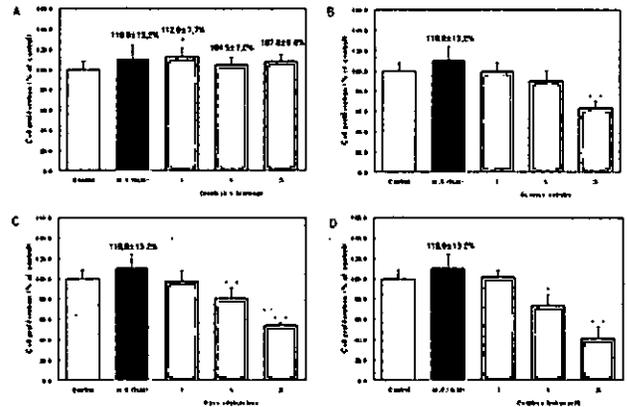
연화바위솔, 참가시나무, 돌가시나무 및 개서어나무가 dermal papilla cells의 증식에 영향을 미치는지 알아보기 위해 MTT assay를 사용하여 조사하였다. 살아있는 세포의 mitochondria 탈수소 효소 작용에 의하여 MTT의 환원에 의하여 생성되는 formazan의 흡광도를 측정하였다. 1, 5 및 25 µg/ml의 농도로 여러 추출물들을 처리 하였을때, 그 중에서 연화바위솔추출물은 1 µg/ml의 농도에서 대조군에 비하여 12.8±7.7% 정도 dermal papilla cell의 증식이 더 증가하였으며, 통계학적으로 의미있는 변화를 보였다(Fig. 1A). 5 및 25 µg/ml의 농도에서도 4.5±7.0%

및 7.8±6.8% 정도 dermal papilla cells의 증식이 더 증가하였으나, 통계학적으로 의미없는 변화임을 알 수 있었다(Fig. 1A). 이런 연화바위솔 추출물의 dermal papilla cell 증식 효과는 양성 대조 물질로 사용한 minoxidil sulfate의 10.8±13.2% 증식 증가 효과보다는 다소 높은 것이다(Fig. 1A). 100±8.3%의 증식 효과를 나타낸 대조군에 비해 참가시나무, 돌가시나무 및 개서어나무는 증식효과가 가장 높았던 1 µg/ml의 농도에서도 각각 99.2±8.8%, 97.5±9.9% 및 101.6±6.4% 정도로 dermal papilla cells에서 증식효과를 나타내지 않았다(Fig. 1B, C, D).

## 고 찰

모발의 성장은 여러 유전자와 성장인자 및 그 수용체, 전신적 호르몬의 작용 등으로 인한 복잡한 기전에 의해 일어난다. 특히 상피세포로 이루어진 모낭의 모기질 세포와 간엽세포로 구성된 모유두 세포가 모발의 형성 및 성장에 중추적인 요소로 작용한다. 이전의 보고에의하면 쥐의 모낭(rat vibrissa follicle)에서 모유두세포를 제거하였을 때 모발의 성장이 일시적으로 중지하였다가 진피근초로부터 세포가 이동하여 다시 모유두세포를 형성하고 모발의 성장이 다시 계속되었으며, 모구의 하 1/3 이하를 제거하면 진피근초로부터 모유두세포가 형성되고 외피근초로부터 모기질세포가 형성되어 모발의 성장이 계속되나 모구의 하 1/3 이상을 제거하면 모발의 성장의 중지되었다<sup>21, 28)</sup>. 그러나 모구의 하 1/3 이상을 제거한 후, 분리된 모유두세포를 이식하면 모발의 성장이 계속되는 사실로 미루어 모유두세포가 모발의 성장에 매우 중요한 역할을 하는 것으로 생각되고 있다. 연화바위솔의 육모 효능을 모낭 성장에 중요한 역할을 하는 dermal papilla cells의 증식 효과와 관련이 있는지 rat vibrissa

Figure 1. Effect of several extracts on the proliferation of cultured dermal papilla cells.

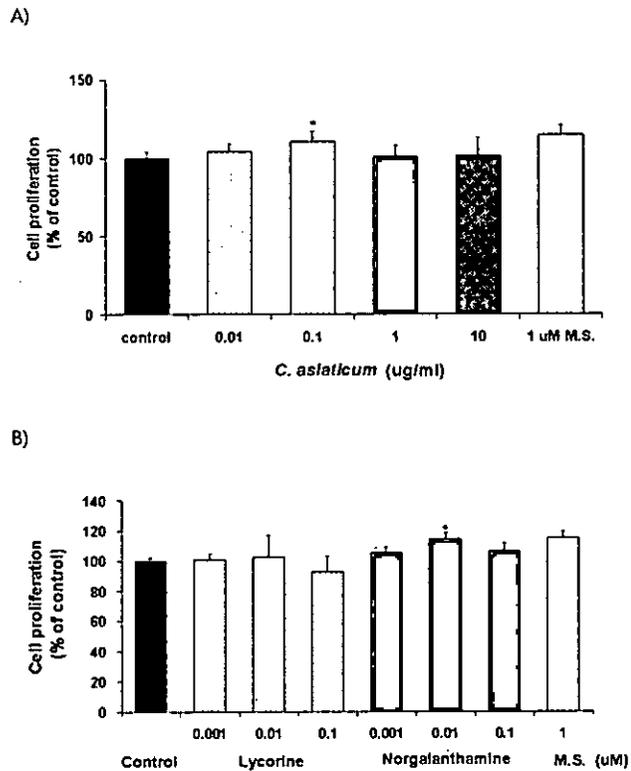


Rat dermal papilla cells (1.0×10<sup>4</sup> cells/mL) were plated in 96 well plates. Dermal papilla cells were treated with various concentration of several extracts or minoxidil sulfate (MS), as indicated. Cell proliferation was measured using a MTT assay for 5 days. All experiments were performed in triplicate. Data are presented as the mean ± the S.D. \*P<0.05. \*\*P<0.005 compared with Control.

immortalized dermal papilla cells<sup>26)</sup>을 사용하여 조사하였다. 1, 5 및 25  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 연화바위솔 추출물을 처리하였을 때, 1  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 대조군에 비하여  $12.88 \pm 7.7\%$  정도 dermal papilla cells의 증식이 의미있게 증가하였으며 이런 효과는 양성 대조 물질로 사용한 minoxidil sulfate의  $10.8 \pm 13.2\%$  증식 증가 효과보다는 다소 높은 것이다. 이전 연구 결과에 의하면, 제주 자생식물들 중에서 문주란(*Crinum asiaticum*)과 문주란의 구성 성분인 norgalanthamine<sup>29)</sup> 및 흑오미자(*Schisandra nigra*)는<sup>30)</sup> immortalized dermal papilla cells의 증식을 증가시켜서 hair growth를 촉진함이 보고되어 있다(Fig. 2, 3).

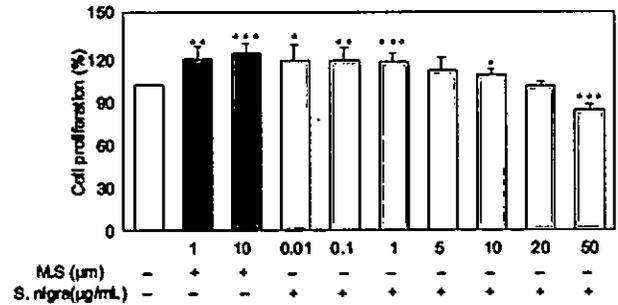
결론적으로 연화바위솔은 모발 성장에 매우 중요한 역할을 하는 dermal papilla cells의 증식을 통하여 모낭이 anagen기로 돌아가도록 활성화시킨다고 추측할 수 있다. 따라서 연화바위솔은 탈모의 예방 및 효과적인 치료를 위하여 사용될 수 있을 것이라 사료된다.

Figure 2. Proliferation effect of *C. asiaticum* on cultured dermal papilla cells<sup>29)</sup>.



(A) Rat dermal papilla cells ( $1.0 \times 10^4$  cells/mL) were plated in 96 well plates. Dermal papilla cells were treated with various concentration of *C. asiaticum* extract or MS, as indicated. (B) Dermal papilla cells were treated with 0.001, 0.01 and 0.1  $\mu\text{M}$  of norgalanthamine or lycorine from *C. asiaticum* or MS, as indicated. Cell proliferation was measured using a MTT assay for 5 days. All experiments were performed in triplicate. Data are presented as the mean  $\pm$  the S.D. \* $P < 0.05$  vs. control.

Figure 3. Proliferation effect of 85% EtOH extract from *S. nigra* on cultured dermal papilla cells<sup>30)</sup>.



Rat dermal papilla cells ( $1.0 \times 10^4$  cells/mL) were plated in 96 well plates. Dermal papilla cells were treated with various concentration of *S. nigra* extract or MS, as indicated. Cell proliferation was measured using a MTT assay for 5 days. All experiments were performed in triplicate. Data are presented as the mean  $\pm$  the S.D. \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$  vs. control.

### 참 고 문 헌

- Elliott K, Stephenson TJ, Messenger AG. Differences in hair follicle dermal papilla volume are due to extracellular matrix volume and cell number: implications for the control of hair follicle size and androgen responses. *J Invest Dermatol* 1999;113(6): 873-7.
- Kaufman KD. Androgens and alopecia. *Mol Cell Endocrinol* 2002;198(1-2):89-95.
- Botchkarev VA. Molecular mechanisms of chemotherapy-induced hair loss. *J Investig Dermatol Symp Proc* 2003;8(1):72-5.
- Batchelor D. Hair and cancer chemotherapy: consequences and nursing care—a literature study. *Eur J Cancer Care (Engl)* 2001;10(3):147-63.
- Botchkarev VA. Stress and the hair follicle: Exploring the connections. *Am J Pathol* 2003;162(3):709-12.
- Aoki E, Shibasaki T, Kawana S. Intermittent foot shock stress prolongs the telogen stage in the hair cycle of mice. *Exp Dermatol* 2003;12(4):371-7.
- Burton JL, Marshall A. Hypertrichosis due to minoxidil. *Br J Dermatol* 1979;101(5):593-5.
- Buhl AE, Waldon DJ, Miller BF, Brunden MN. Differences in activity of minoxidil and cyclosporin A on hair growth in nude and normal mice. Comparisons of in vivo and in vitro studies. *Lab Invest* 1990;62(1):104-7.
- Kaufman KD, Dawber RP. Finasteride, a Type 2 5 $\alpha$ -reductase inhibitor, in the treatment of men with androgenetic alopecia. *Expert Opin Investig Drugs* 1999;8(4):403-15.

- 10) Hébert JM, Rosenquist T, G z J, Martin GR. FGF5 as a regulator of hair growth cycle: evidence from targeted and spontaneous mutations. *Cell* 1994;8(6):1017-25.
- 11) Ota Y, Saitoh Y, Suzuki S, Ozawa K, Kawano M, Imamura T. Fibroblast Growth Factor 5 Inhibits Hair Growth by Blocking Dermal Papilla Cell Activation. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;290(1):169-76.
- 12) Jang JH. Stimulation of human hair growth by the recombinant human keratinocyte growth factor-2 (KGF-2). *Biotechnol Lett* 2005;27(11):749-52.
- 13) Itami S, Kurata S, Takayasu S. Androgen induction of follicular epithelial cell growth is mediated via insulin-like growth factor-1 from dermal papilla cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;212(3):988-94.
- 14) Kamiya T, Shirai A, Kawashima S, Sato S, Tamaoki T. Hair follicle elongation in organ culture of skin from newborn and adult mice. *Dermatol Sci* 1998;17(1):54-60.
- 15) Philpott MP, Sanders DA, Kealey T. Effects of insulin and insulin-like growth factors on cultured human hair follicles: IGF-1 at physiological concentration is an important regulator of hair follicle growth in vitro. *J Invest Dermatol* 1994;102(6):857-61.
- 16) Hibino T, Nishiyama T. Role of TGF- $\beta$ 2 in the human hair cycle. *J Dermatol Sci* 2004;35(1):9-18.
- 17) Soma T, Dohrmann CE, Hibino T, Raftery LA. Profile of Transforming Growth Factor- $\beta$  Responses During the Murine Hair Cycle. *J Invest Dermatol* 2003;121(5):969-75.
- 18) Philp D, Nguyen M, Scheremeta B, St-Surin S, Villa AM, Orgel A et al. Thymosin  $\beta$ 4 increases hair growth by activation of hair follicle stem cells. *FASEB J* 2004;18(2):385-97.
- 19) Moore KA, Lemischka IR. Stem cells and their niches. *Science* 2006;311(5369):1880-5.
- 20) Blanpain C, Lowry WE, Geoghegan A, Polak L, Fuchs E. Self-Renewal, Multipotency, and the Existence of Two Cell Populations within an Epithelial Stem Cell Niche. *Cell* 2004;118(5):635-48.
- 21) Jahoda CA, Horne KA, Oliver RF. Induction of hair growth by implantation of cultured dermal papilla cells. *Nature* 1984;311(5986):560-2.
- 22) Kim JI, Kim HH, Kim SU, Lee KT, Ham IH, Whang WK. Antioxidative compounds from *Quercus salicicina* Blume Stem. *Arch Pharm Res* 2008;31(3):274-8.
- 23) Seto T, Yasuda I, Akiyama K. Purgative activity and principals of the fruits of *Rosa multiflora* and *R. wichuraiana*. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1992;40(8):2080-2.
- 24) Zhang R, Kang KA, Piao MJ, Park JW, Shin TY, Yoo BS et al. Cytoprotective activity of *Carpinus tschonoskii* against HO induced oxidative stress. *Nat Prod Res* 2007;13(2):118-22.
- 25) Lee JY, Lee JS, Lim JH, Sim SH, Park DH. Antibacterial effects of S-(-)-tulipalin B isolated from *Spiraea thunbergii* Sieb. on *Escherichia coli*, a major food borne pathogenic microorganism. *J Med Plant Res* 2008;2(3):59-65.
- 26) Filsell W, Little JC, Stones AJ, Granger SP, Bayley SA. Transfection of rat dermal papilla cells with a gene encoding a temperature-sensitive polyomavirus large T antigen generates cell lines a differentiated phenotype. *J Cell Sci* 1994;107:1761-72.
- 27) Han JH, Kwon OS, Chung JH, Cho KH, Eun HC, Kim KH. Effect of minoxidil on proliferation and apoptosis in dermal papilla cells of human hair follicle. *J Dermatol Sci* 2004;34(2):91-8.
- 28) Horne KA, Jahoda CA, Oliver RF. Whisker growth induced by implantation of cultured vibrissa dermal papilla cells in the adult rat. *J Embryol Exp Morphol* 1986;97:111-24.
- 29) Kim SC, Kang JI, Kim MK, Hyun JH, Boo HJ, Park DB et al. Promotion effect of norgalanthamine, a component of *Crinum asiaticum*, on hair growth. *Eur J Dermatol* 2010;20(1):42-8.
- 30) Kang JI, Kim SC, Hyun JH, Kang JH, Park DB, Lee YJ et al. Promotion effect of *Schisandra nigra* on the growth of hair. *Eur J Dermatol* 2009;19(2):119-25.