

모발생장기 유도 C3H 생쥐에 있어서 미녹시딜과 생약추출 혼합 조성물의 모발 재생장 유도 효능

이계호 · 한선일 · 박길홍* · 권영이#

STC 생명과학연구원 신약개발연구소, *고려대학교 의과대학

(Received January 6, 2003; Revised January 23, 2003)

Evaluation of the Herbal Extract Mixture for the Effects of Hair-Regrowth Compared to 3% Minoxidil; Elongation of Anagen Period on C3H Mice

Kye-Ho Lee, Sun-Il Han, Gil-Hong Park* and Young-Ee Kwon#

Drug Discovery Institute STC Life Science Center, 6-13, Nonhyun-Dong, Kangnam-Gu, Seoul 135-010, Korea

*College of Medicine, Korea University, Anam-Dong, Sungbuk-Gu, Seoul 136-705, Korea

Abstract — The hair cycle consists of three phases, growth (anagen), involution (catagen) and quiescence (telogen) phases. In order to evaluate hair re-growth effect of herbal extracts mixture containing the 70% ethanol extracts of *Polygoni Multiflori Radix*, *Mori Cortex Radicis*, *Ginkgo Biloba Folium* and Pine bud, we have examined the induction of the anagen phase and/or elongation of the anagen period using C3H mice. Morphological examination was done by Hattori' and Ogawa's method. Enzyme activities of γ -glutamyl transpeptidase (γ -GT) and alkaline phosphatase (ALP) was detected by Bessey-Lovry-Brock's method. Enzyme activity as a biochemical marker of hair cycle was investigated in the third hair cycle period of C3H mice after depilation. 3% Minoxidil treated group and herbal extract mixture treated group were shown 3 days earlier initiation of anagen than control group. In cycling mouse skin, γ -GT activity is pronounced during anagen and greatly diminished during telogen. Herbal extract mixture has shown promising hair re-growth effect on hair follicular cycles of C3H mice.

Keywords □ Hair re-growth, herbal extract, minoxidil, γ -glutamyl transpeptidase

탈모란 정상적으로 머리카락이 있어야 할 곳에 유전적, 후천적인 요인으로 머리카락이 빠지는 현상으로 지금까지 탈모를 치료하기 위한 많은 약물과 방법이 연구되고 있지만, 현재 미국 식품의약품안전청(FDA)에 의해 발모제로 인정된 것은 미녹시딜(minoxidil)¹과 피네스테라이드(finasteride)² 두 가지이다. 이 외에는 육포, 탈모 방지의 효능을 표방하는 의약품 및 화장품이 시중에 유통되고 있는데 이들의 대부분은 천연물 추출혼합물인 것으로 알려져 있다. 미녹시딜은 미국 업존사에 의해 고혈압 치료제로 개발되어 승인을 받았으나 부작용으로 발모작용이 나타나자 바르는 발모제로 승인을 받게 되었고, 피네스테라이드는 전립선치료제로 개발되었다가 부작용으로 발모작용이 나타나 먹는 발모제로 사용되고 있다. 발모제의 발모작용은 명확히 밝혀지지 않았고, 일반적으로 혈액순환의 증가로 두피에 영양분 공급 증

가가 그 주요 원인으로 알려져 있다.³ 상백피, 하수오, 솔밭, 은행잎 등은 동의보감에 한방적으로 발모와 탈모방지에 효능이 있는 것으로 되어 있다. 상백피(Mori Cortex Radicis)는 약리 실험에서 혈압강하, 거담, 이뇨, 혈당강하 작용 등이 알려져 있으며,⁴ 하수오(Polygoni Multiflori Radix)는 기운과 피를 도와주고, 근육과 뼈를 튼튼히 하며 골수를 매우고, 모발을 검게 하며 수명을 연장하는 것으로⁵ 솔밭(Pine bud)은 프리라디칼 소거와 자외선 흡수 보조역할을 수행하는 것으로 알려져 있으며,⁶ 은행잎(Ginkgo Biloba Folium) 추출물은 사람 각질세포(keratinocyte)에서 glutathione 대사를 유도하는 것으로 알려져 있다.⁷ 발모 효능 시험 방법으로는 C57BL이나 C3H 생쥐를 이용한 실험법이 널리 사용되고 있다.⁸⁻¹⁰ 휴지기(telogen) 단계의 생쥐 등부위를 제모(除毛)한 후, 시료를 처리하고 발모 정도를 육안으로 관찰하는 것이 일반적이며, 생쥐 등부위 피부조직을 적출하여 발모와 관련된 생화학적 또는 유전적인 효소의 활성 여부를 측정하는 법도 사용되고 있다. 발모와 관련된 생화학적 효소인 γ -GT(γ -glutamyl transpeptidase)는 membrane-bounded enzyme으로 glutathione

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-3438-0550 (팩스) 02-511-6705
(E-mail) yekwon@stc365.com

대시와 세포막을 통한 아미노산과 펩티드의 흡수, 배출에 관여한다.^{11,12)} 특히 성장기(anagen)의 가장 좋은 지표로 보고된 바 있다.¹³⁾ γ -GT는 증식과 분열이 활발한 세포내에서 많이 발현되고, 휴지기(telogen)에 접어들면 감소했다가 성장기(anagen)에 들어 가면 증가하는 양상을 나타내는 것으로 보고되어 있다.¹⁴⁾ Hair follicle 세포내 γ -GT의 역할은 glutathione tripeptide로부터 cysteine moiety가 분리되는 과정에 작용하여 cysteine을 얻어 keratin을 합성하는 것으로 알려져 있다.¹⁵⁾ Alkaline phosphatase (ALP)가 발모 기전에 관여하는 바는 규명되어 있지 않지만 모발 성장 과정 중 hair matrix 내 혈관 신생에 관여한다는 보고¹⁶⁾와 발모가 일어나면서 효소 활성이 증가한다는 보고^{8,9,13)}가 있어 발모의 또 다른 지표로 고려될 수 있다. 본 연구는 미녹시딜과 생약추출물 혼합 조성물을 처리하였을 때 나타나는 발모작용을 비교 관찰하기 위하여, C3H 생쥐의 등부위를 제모(depilation)하여 성장기(anagen)를 유도한 후 낱자 경과에 따른 hair re-growth에 대한 형태 관찰과 이때 증가되는 γ -GT 및 ALP 활성을 측정하여 발모 정도를 알아보고자 하였다.

실험방법

시약 및 기기

Folin & ciocalteu's phenol reagent, reduced glutathione, oxidized glutathione, bovine serum albumin, β -NADPH, tris-(hydroxymethyl)aminomethane는 Sigma 사의 제품을 사용하였으며 그 외 일반 시약들은 특급을 사용하였다. 기기는 UV spectrophotometer(Bio-Rad, SmartSpecTM3000), biohomogenizer (Biospec Products, Inc., M133/1281-0)와 그 외의 기기는 실험실에서 사용하는 일반적인 기자재를 이용하였다. 시험 물질은 시중에서 구입한 3% minoxidil(현대약품)과 모발영양제로 시중에 유통되고 있는 생약추출물 혼합조성물(은행잎:솔밭:하수오:상백피 = 1:1:1:1 추출 혼합조성물 - 이하 Hem으로 표기)을 사용하였다.

실험동물

동물은 체중 30 g 내외의 건강한 5주령 C3H/He종, 수컷 생쥐를 중앙실험동물로부터 구입하여 사육실(온도 25 ± 1°C, 습도 50 ± 5%)에서 3주일 적응시켜 실험에 사용하였다. 실험군은 제모기 및 면도기를 이용하여 제 2 발모 주기의 휴지기(telogen)에 제모한 후 45% 에탄올 도포군(대조군), 3% minoxidil 도포군, Hem 도포군으로 나누었고 각 군은 낱자 경과(5, 8, 11, 15, 20, 30일)에 따라 다시 6군으로 나누어 1군당 각각 5마리씩 분리 사용하였다. 각 실험군에 대한 시료의 도포는 제모한 등부위에 1일 2회, 1회 도포시 약 300 μ l 씩 도포하였다(total n=90). 동물은 제모 후 5, 8, 11, 15, 20, 30일에 발모 형태를 사진 촬영하고

Male C3H mice at 8 weeks after birth

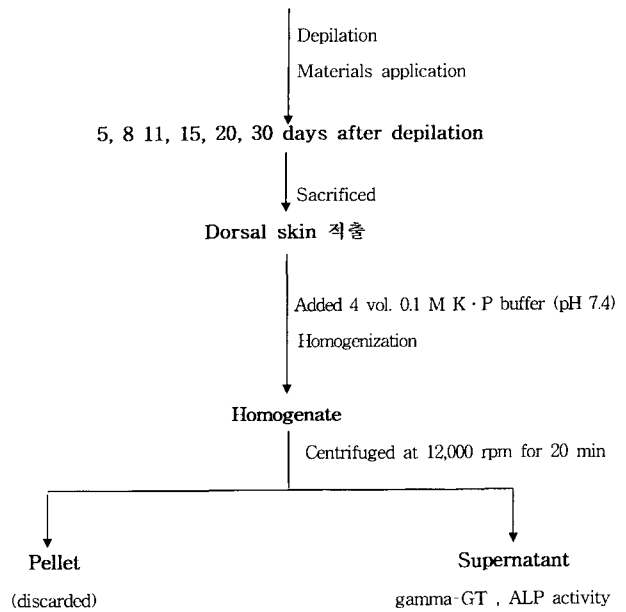


Fig. 1 – Process of hair growth activity assay.

경추 탈구법에 의해 처치한 후 피부 조직을 적출하여 지방과 근육조직을 제거하고 효소 활성도 측정에 사용하였다.

효소 시료의 조제

피부 조직은 빙냉하에서 미세 절편으로 만들었고, 그 중 일정한량을 칭량한 후, 4배량의 0.1 M 인산완충용액(pH 7.4)을 가하여 biohomogenizer를 이용하여 20%(w/v) 마쇄 균질액을 만들었다. 이 균질액을 12,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 그 상등액(PMF: post-mitochondrial fraction)을 분리하였다(Fig. 1).

효소 활성도 측정

γ -glutamyl transpeptidase (γ -GT) 활성 - γ -glutamyl-3-carboxy-4-hydroxyanilide를 기질로 하여 생성된 5-aminosalicylic acid를 다시 *p*-xylenol과 sodium metaperiodate로 반응시켜 생성된 kenoid 색소를 635 nm에서 측정하는 kit 시액(영동제약)에 의하였다. 활성도 단위는 단백질 1 mg 당 unit로 표시하였다.

Alkaline phosphatase (ALP) 활성 - *p*-nitrophenolphosphate를 기질로 하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 유리된 *p*-nitrophenol에 alkali를 가하여 비색 정량하는 Bessey-Lovry-Brock 방법¹⁷⁾에 의하였다. 활성도 단위는 단백질 1 mg 당 Bessey-Lowry unit로 하였고, 단백질의 정량은 Lowry 등의 방법¹⁸⁾에 준하여 bovine albumin을 표준품으로 하여 측정하였다.

통계 처리

통계 처리는 student's t-test로 하였으며 유의 수준은 0.05 이

하로 하였다.¹⁹⁾

형태 관찰

Hair re-growth 형태 관찰은 Hattori와 Ogawa 방법⁹⁾에 준하였다. 휴지기(telogen)인 C3H/He 생쥐(8주령, 수컷) 등부위 털을 제거후 1일 2회, 1회 약 300 μ l 씩 도포하였다. 제모후 15, 20일째에 디지털 카메라(Sony Corp., Cyber-shot)를 이용하여 제모 부위 당 hair re-growth 정도를 비교하였다.

결과 및 고찰

형태 변화

발모 주기는 성장기(anagen), 퇴행기(catagen), 휴지기(telogen)를 거치면서 탈모와 발모가 반복되어지는 것으로 알려져 있는데²⁰⁾ C3H 생쥐의 경우 휴지기일 때 핑크색을 나타내는 피부색이 발모가 일어나면서 청색으로 바뀌어 성장기 시작점을 육안으로 관찰하기 쉬워 *in vivo* 발모 약효 검색 실험동물로 많이 이용되고 있다.^{8,9)} 발모 주기를 이용한 발모 실험을 위하여 8주령 C3H 생쥐의 제 2 발모 주기 휴지기 상태인 등부위를 제모함

로써 동일한 세 번째 발모 주기를 유도한 후 3% minoxidil, Hem를 도포하였을 때 나타나는 형태 변화를 제모 후 15, 20일째에 사진촬영을 통해 확인하였다(Fig. 2). 실험 결과, 대부분 제모 후 약 8~13일경에 성장기가 유도되었다. 3% minoxidil 도포군은 다른 군에 비해 약 2~3일 성장기(anagen)가 빨리 유도되었고, 제모 후 20일경 거의 완전한 hair re-growth를 나타내었다. 반면, Hem 도포군의 경우 제모 후 15일경 대조군과 비슷한 양상으로 hair re-growth가 일어났지만, 날짜 경과에 따라 급격한 hair re-growth가 일어나면서 도포 20일경에는 대조군에 비해 더 많은 hair re-growth를 보여주었으며, 모발의 윤기와 건강 상태가 미녹시딜 도포군이나 대조군보다 더 우수하였다. 이는 은행잎의 glutathione 대사 및 상백피의 혈행촉진작용, 하수오의 모발증강작용과 솔잎의 항산화능이 서로 상승작용으로 나타난 것으로 사료되며 모발의 윤기와 건강 상태가 미녹시딜 도포군보다 좋았던 점은 생약 추출물들이 모발에 영양분을 공급하여 나타난 작용이라고 생각된다.

γ -Glutamyl transpeptidase (γ -GT) 활성

γ -GT(γ -glutamyl transpeptidase)는 생체내 산화적 스트레스와

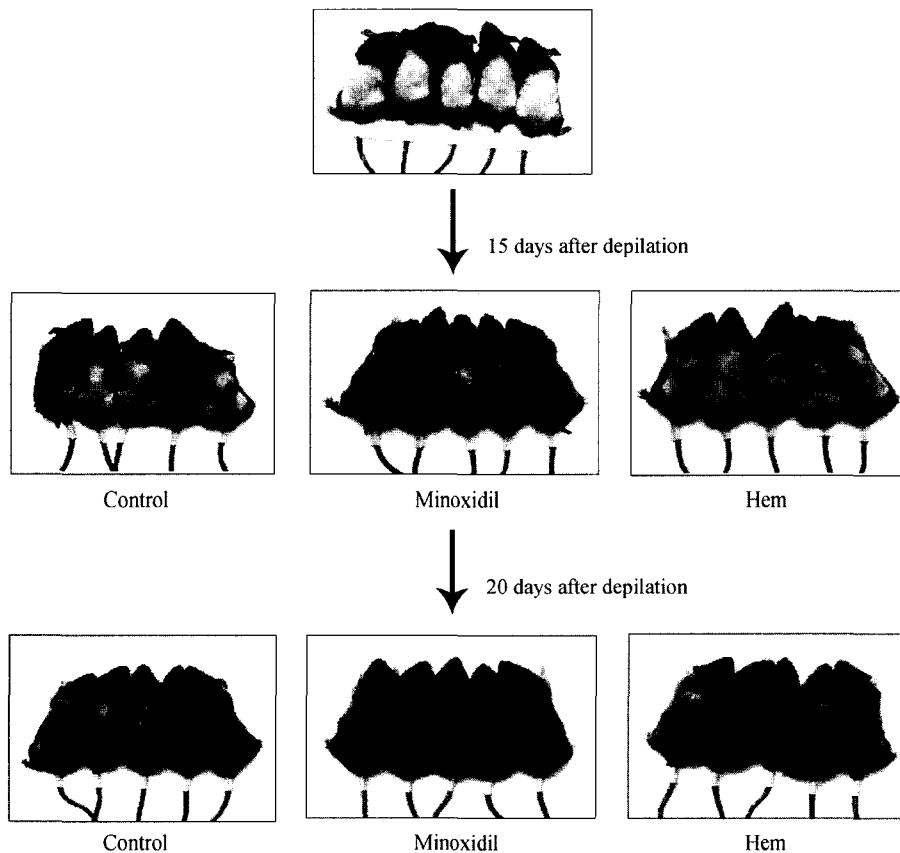


Fig. 2 – Morphology of C3H mice hair re-growth after depilation. Photographs were taken after topical application of test agents for 15, 20 days. These agents were applied to 8-week old C3H mice (♂), 600 μ l/day/mouse.

Table I – Change in γ -glutamyl transpeptidase activity after depilation in C3H mice skin

Group	5 days	8 days	11 days	15 days	20 days	30 days
Control	138.88 ± 11.70	215.27 ± 4.98	255.84 ± 6.72	524.19 ± 21.35	609.02 ± 20.43	298.66 ± 19.51
3% Minoxidil	235.47 ± 26.41 ^{a,c)}	267.11 ± 14.08 ^{**a)}	427.55 ± 13.85 ^{***a)}	574.63 ± 27.06	512.66 ± 24.34	340.83 ± 26.38
Hem	143.57 ± 13.28	257.57 ± 12.21 ^{a)}	390.19 ± 17.50 ^{a)}	684.78 ± 30.81 ^{**a,*b)}	730.02 ± 27.02 ^{**a,***b)}	303.31 ± 17.96

The assay procedure was described in experimental methods. Each value represents the mean ± S.E. of 5 experiments.
^{a)} Significantly different from the control (45% ethanol) group, ^{b)} Significantly different from the minoxidil group, ^{c)} Significantly different from the Hem group (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001). Unit; mU/ml.

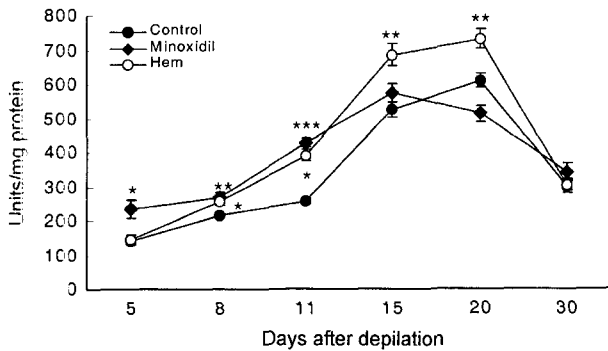


Fig. 3 – Change in gamma-glutamyl transpeptidase activities after depilation in C3H mice skin. Skin samples were incubated with gamma-GT substrate for 20 min at 37°C. Each value represents the mean ± S.E. of 5 experiments. Unit; mU/ml. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 compared with control.

glutathione 대사 그리고 세포막을 통한 아미노산과 펩티드의 흡수 및 분비에 관여하는 효소로,^{12,21)} glutamate, cysteine, glycine으로 구성된 glutathione의 체내 대사에 관여하여 세포내 hair의 케라틴화에 주성분인 cysteine을 공급한다.¹⁵⁾ 발모 주기에서 성장기(anagen)가 유도될 때 γ -GT의 더 많은 발현으로 발모의 표지 성분중 하나로 γ -GT가 제시되었다.¹⁵⁾ Table I과 Fig. 3은 8주령 C3H 생쥐 등부위를 제모하여 anagen 유도후 날짜 경과에 따라 추출된 피부 조직의 γ -GT 측정 결과이다. 제모시 면도에 의한 피부 자극으로 올 수 있는 초기 효소 활성의 영향을 배제하기 위해 제모 5일 후부터 효소 활성을 측정하였고, 초기에 3% minoxidil 도포군이 다른 군에 비해 효소 활성이 높게 나타났으나, 피부색이 핑크색에서 청색으로 변하는 8일에서 11일경에는 Hem 도포군과 유사한 값을 나타내었다. Hair re-growth가 급격히 일어나는 제모 후 15일에서 20일경에는 Hem 도포군이 3% minoxidil 도포군에 비하여 유의한 효소 활성 증가를 나타내었으며(p<0.05, p<0.001), 이는 형태 관찰과 같은 결과를 보여주었다. 3% Minoxidil 도포군은 성장기가 일어나는 시기에는 다른 군에 비하여 효소 활성이 높았고, 후기 성장기 시기인 15일에서 20일 사이에는 다른 군에 비해 활성이 떨어져 전반적으로 완만한 상승의 변화를 보였다. 대조군의 경우 제모 후 11일에서 15일 사이에 효소 활성이 급격히 증가하는 반면, Hem 도포군의 경

우 8일째부터 효소 활성의 증가를 보여주었다. 이는 45% 에탄올을 도포한 대조군에 비해 3일 정도 성장기가 먼저 유도되었음을 나타낸 것이다. 또한 Hem 도포군의 경우 Fig. 2에서 관찰된 바와 같이 제모 후 15일에서 20일 사이에 급격한 hair re-growth가 일어남과 동시에 γ -GT 또한 유의하게 증가(p<0.05, p<0.01)하고 있음을 관찰할 수 있었다. Richards 등은 표피에서 진피로 hair follicle의 함몰시에 γ -GT의 발현이 보이지 않으나, 초기 성장기 단계에서 케라틴화와 관련하여 γ -GT 활성이 나타나고 있음을 보고하였다.^{23,24)} 즉 제모 후 성장기가 유도되는 8일에서 11일경에 γ -GT 활성이 증가하는 양상은 초기 성장기의 케라틴화에 필요한 cysteine으로 분해하는데 γ -GT가 관여하여 나타난 결과로 생각된다. 특히 은행잎이 glutathione 대사에 관여하는 것으로 보고되어 있어⁷⁾ γ -GT 활성 증가에 영향을 준 것으로 사료된다.

Alkaline phosphatase (ALP) 활성

ALP는 주로 혈관 신생에 관여하며, 진피 유두에 밀집되어 있는 모세 혈관으로 영양을 공급함으로써 발모 작용을 원활하게 해주는 것으로 알려져 있다.^{8,9)} 따라서 ALP 측정은 발모 작용을 간접적으로 추측 가능한 것으로 보고되어 있고,¹⁶⁾ non-growth 부위에 비해 re-growth 부위에서 alkaline phosphatase 활성이 현

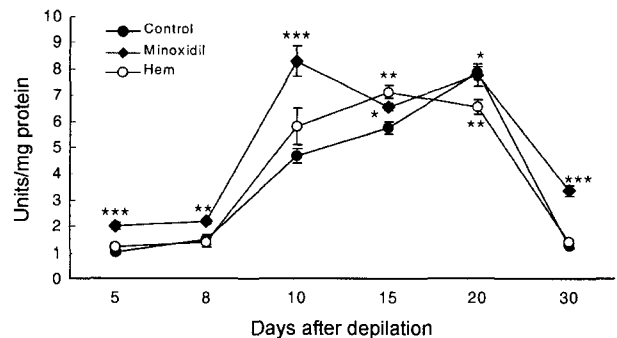


Fig. 4 – Alkaline phosphatase activities of hair cycle-dependent changes in C3H mice. Skin samples were incubated with ALP substrate for 30 min at 37°C. Each value represents the mean ± S.E. of 5 experiments. Unit; Bessey-Lowry unit/ml. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 compared with control.

Table II – Change in alkaline phosphatase activity after depilation in C3H mice skin

Group	5 days	8 days	11 days	15 days	20 days	30 days
Control	1.026 ± 0.065	1.490 ± 0.171	4.670 ± 0.263	5.748 ± 0.248	7.833 ± 0.274	1.241 ± 0.062
3% Minoxidil	1.997 ± 0.141 ^{***a)}	2.187 ± 0.070 ^{**a,c)}	8.286 ± 0.599 ^{***a,c)}	6.564 ± 0.141 ^{*a)}	7.757 ± 0.420 ^{*c)}	3.345 ± 0.225 ^{***a,c)}
Hem	1.200 ± 0.071	1.400 ± 0.169	5.791 ± 0.714	7.113 ± 0.249 ^{**a)}	6.536 ± 0.271 ^{**a)}	1.406 ± 0.071

The assay procedure was described in experimental methods. Each value represents the mean ± S.E. of 5 experiments. ^{a)} Significantly different from the control (45% alcohol) group, ^{b)} Significantly different from the minoxidil group, ^{c)} Significantly different from the Hem group (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001). Unit; Bessey-Lowry unit/ml.

저히 증가함이 보고되었다.⁹⁾ Fig. 4와 Table II는 날짜 경과에 따른 ALP 활성을 측정된 것으로 3% minoxidil 도포군의 경우 제 모 후 5일에서 8일 사이의 ALP는 γ -GT와 유사한 양상으로 다른 군에 비해 유의한 차이를 보였다(p<0.01, p<0.001). 효소 활성은 생장기가 일어나는 시기인 8일에서 11일경에 세 군 모두 비슷한 양상으로 증가하는데, 3% minoxidil 도포군이 가장 높은 증가를, Hem 도포군은 γ -GT 활성도와 유사하게 11일에서 15일 사이에 대조군에 비해 높은 활성 증가를 보여주었다. 3% Minoxidil 도포군이 시간에 따라 ALP 활성도가 다른 군에 비해 증가하는 것은 혈관 확장에 의한 혈액순환의 증가로 모발 생장에 필요한 영양분을 공급함으로써 발모 작용이 나타나는 것과 관련된 결과로 추측되며, 상백피, 은행잎 등 천연물 추출 혼합 조성물로 이루어진 Hem도포군도 대조군보다 높은 ALP 활성을 나타내어 천연물 추출 혼합물이 혈관 확장에 영향을 주었을 것으로 생각된다.

결 론

천연물 추출물 혼합조성물인 Hem의 발모효능을 시험하기 위하여 발모제인 미녹시딜과 hair re-growth 효능을 비교 관찰하였다. 발모 주기중 퇴행기(telogen) 시기의 C3H 생쥐 등부위를 제 모하여 생장기(anagen)를 유도한 다음 hair re-growth에 따른 형태 관찰과 발모시 증가되는 γ -GT 및 ALP 활성도를 측정된 결과 3% minoxidil 도포군에서 약 2일 정도 초기 생장기 유도가 빠르게 나타났고, Hem 도포군의 경우 mid-anagen 단계에서 급격한 hair re-growth 촉진이 나타났으며, 모발의 상태가 대조군이나 미녹시딜 도포군보다 건강한 상태를 보여주어 천연물 추출물도 발모제 개발의 후보 소재로서 활용 가능성을 시사하였다.

문 헌

- Rumsfield, J. A., West, D. P. and Fiedler-Weiss, V. C. : Topical minoxidil therapy for hair re-growth. *Clin. Pharm.* **6**(5), 386 (1987).
- Trueb, R. M. : The value of hair cosmetics and pharmaceuticals. *Dermatology* **202**(4), 275 (2001).
- Bessey, O. A., Lowry, O. H. and Brock, M. J. : A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. *J. Biol. Chem.*, **164**, 321 (1946).
- Choi, H. J., Kim, N. J. and Kim, D. H. : Inhibitory effects of crude drugs on alpha-glucosidase. *Arch. Pharm. Res.* **23**(3), 261 (2000).
- Buxman, M. M., Kocarnik, M. J. and Holbrook, K. A. : Differentiation markers in Fetal Epidermis: Transglutaminase and transpeptidase. *J. Invest. Dermatol.*, **72**, 171 (1979).
- Domisch, T., Finer, L. and Lehto, T. : Effects of soil temperature on biomass and carbohydrate allocation in Scots pine (*Pinus sylvestris*) seedlings at the beginning of the growing season. *Tree Physiol.* **21**(7), 465 (2001).
- Rimbach, G., Gohil, K., Matsugo, S., Moini, H., Saliou, C., Virgili, F., Weber, S. U. and Packer, L. : Induction of glutathione synthesis in human keratinocytes by Ginkgo biloba extract (EGb761). *Biofactors* **15**(1), 39 (2001).
- Carlberg, I. and Mannervik, B. : Purification and characterization of the flavoenzyme glutathione reductase from rat liver. *Bio. Chem.* **250**(14), 5475 (1975).
- Chase, H. B., Rauch, H. and Smith, V. W. : Critical stages of hair development and pigmentation in mouse. *Physiol. Zool.* **24**, 1 (1951).
- Deyoung, L. M., Richards, W. L., Bonzelet, W., Tsai, L. L. and Boutwell, R. K. : Localization and significance of γ -glutamyltranspeptidase in normal and neoplastic mouse skin. *Cancer Res.* **38**, 3697 (1978).
- Hamada, K. : Evaluation of the effects of hair re-growth substances on elongation of anagen period and blockagen of anagen-catagen transformation by hair cycle markers. *Fragrance J.* **5**, 36 (1997).
- Handjiski, B. K., Eichmuller, S., Hofmann, U., Czarnetzki, B. M. and Paus, R. : Alkaline phosphatase activity and localization during the murine hair cycle. *Br. J. Dermatol.* **131**, 303 (1994).
- Hattori, M. and Ogawa, H. : Biochemical analysis of hair growth from the aspects of aging and enzyme activities. *J. Dermatol.*, **10**(1), 45 (1983).
- Kawabe, T. T., Kubicek, M. F., Johnson, G. A. and Buhl, A. E. : Use of gamma-glutamyl transpeptidase activity as a marker of hair cycle and anagen induction in mouse hair follicles. *J.*

- Invest. Dermatol.*, **103**(1), 122 (1994).
- 15) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1959).
- 16) Meister, A. and Anderson, M. E. : Glutathione. *Ann. Rev. Biochem.*, **52**, 711 (1983).
- 17) Meister, A. : On the cycles of glutathione metabolism and transport. *Curr. Top. Cell Regul.*, **18**, 21 (1981).
- 18) Montagna, W. and Parakkal, P. F. : *The pilary apparatus In: The structure and function of skin* 3rd ed., Academic Press, Inc., New York, p. 172 (1974).
- 19) Mori, O. and Uno, H. : The Effect of topical minoxidil on hair follicular Cycles of Rats. *J. Dermatol.*, **17**, 276 (1990).
- 20) Paglia, E. D. and Valentine, W. N. : Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.*, **70**, 158 (1967).
- 21) Paus, A. and Cotsarelis, G. : The biology of hair follicles. *N. Engl. J. Med.*, **341**(7), 491 (1999).
- 22) Richards, W. L. and Astrup, E. G. : Expression of γ -glutamyl transpeptidase activity in the developing mouse tooth, intervertebral disc, and hair follicle. *Cancer Res.*, **42**(10), 4143 (1982).
- 23) Scheffler, W. C. : *Statistics for the Biological Sciences*, 2nd ed., Addison-Wesley Publishing Co., USA Menlo Park. p. 84 (1980).
- 24) Straile, W. E. : Possible functions of the external root sheath during growth of the hair follicle. *J. Exp. Zool.*, **150**, 207 (1962).