大韓本草學會誌 제26권 제4호(2011년 12월)
Kor. J. Herbology 2011 ; 26(4) : 9-14

경옥고가미방 추출물이 생쥐의 양모 및 발모 관련 단백 발현에 미치는 영향

도은주[1], 황미열[2], 김승연[1], 이진상[1], 양대석[3], 양재하[2,4], 김미려[1,5*]

1 : (재)대구테크노파크 한방산업지원센터 2 : 대구한의대학교 한방생명자원연구센터
3 : (주)약령시사람들 4 : 대구한의대학교 한의과대학 생리학교실
5 : 대구한의대학교 한의과대학 본초약리학교실

The effect of *Gyungokgo-gamibang* extract on hair growth and protein expression in mice

Eunju Do[1], Meeyul Hwang[2], SeungYeon Kim[1], Jinsang Lee[1],
Dae-Seok Yang[3], Chae Ha Yang[2,4], Mi Ryeo Kim[1,5*]

1 : Daegu Technopark Oriental Medicine Industry Support Center, Daegu, Korea.
2 : The Research Center for Biomedical Resources of Oriental Medicine, Daegu Haany University
3 : Yangnyeongsi People Co., Ltd., Daegu, Korea
4 : Department of Physiology, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University
5 : Department of Herbal Pharmacology, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University

ABSTRACT

Objective : Present study was carried out to investigate the effect of *Gyungohkgo-gamibang* extract on hair growth and protein expression in an alopecia model of C57BL/6 mice.

Methods : Mice were divided into 3 experimental groups including normal (vehicle), *Gyungohkgo-gamibang* extract (YNS-10) and 5% minoxidil-treated group. The test materials were daily applied with 0.1 ml per mouse on shaved dorsal skin for 3 weeks. The hair growth was monitored by photograph at 5, 10, 15, 21 days after topical application. Then the changes of hair density and hair thickness in the hair-removed area were evaluated by phototrichogram using folliscope. Also the expression level of growth factors related to hair growth was measured by western blotting.

Results : Application of minoxidil or YNS-10 stimulated the hair growth compared to vehicle treatment. Therefore hair density of minoxidil or YNS-10 application was increased about 200% and 210% more than in vehicle application on 14 day, respectively. And hair thickness of both minoxidil group and YNS-10 group was increased about 220% and 210 % more than in vehicle spreading on 14 day, respectively. Futhermore the protein expression of IGF-1 and VEGF were significantly up-regulated on 7 day in YNS-10 and minoxidil-spreaded group compared to vehicle-applied group.

Conclusion : These data suggest that YNS-10 has potent stimulating activity on hair growth in C57BL/6 mice and potential usefulness as ingredients of hair tonic and hairrestore.

Key words : hair growth, *Gyungohkgo-gamibang*, minoxidil, alopecia, IGF-1, VEGF

서 론

모발은 인간의 두개골을 보호하는 역할 뿐 아니라 미용적인 면에서도 중요한 요소로 작용한다. 따라서 모발의 모습이 변화되면 그 사람의 이미지도 변화되므로 발모, 양모 및 탈모 예방에 많은 관심이 증가하고 있다[1,2]. 탈모는 일련의 노화 현상으로 인식되어 왔으나 최근에는 유전적 요인과 함께 스트레스, 서구화된 식습관, 영양 불균형, 사회활동의 변화 등의

*교신저자 : 김미려. 대구 수성구 상동 165번지 대구한의학교 한의과대학 본초약리학교실.
· Tel : 053-770-2241. · E-mail : mrkim@dhu.ac.kr.
· 접수 : 2011년 11월 6일 · 수정 : 2011년 11월 26일 · 채택 : 2011년 12월 16일

다양한 원인으로 탈모가 진행됨이 밝혀지고 있다[3,4]. 모발은 정상 모발의 90%를 차지하는 성장기(anagen, growing phase), 생장정지와 모근이 위축되는 퇴행기(catagen, transitional phase), 모구가 건조되고 곤봉모가 되는 휴지기(telogen, resting phase) 그리고 탈락기(exogen)의 4단계의 성장주기에 따라 성장과 탈모를 반복한다. 모발의 성장 및 탈락과 관련하여 수행된 각종 연구에 따르면 모유두와 모낭을 둘러싸고 있는 혈관의 순환장애로 인한 영양공급 장애 및 남성호르몬이 주된 탈모의 요인으로 인식되고 있으며, 특히 여러 성장인자들이 탈모와 양모에 관여하는 것으로 보고되고 있다. 이 중 IGF-1, VEGF는 모발의 성장을 촉진하는 요인으로 작용하고, TGF-β2는 모발의 성장을 억제하는 요인으로 작용한다고 알려져 있다[5].

현재 모발성장을 촉진하는 약물로서 미국 Food and Drug Administration (FDA)에서 공인받은 것으로는 경피도포용인 미녹시딜(Minoxidil)과 경구복용제인 피나스테라이드(finasteride)의 두 가지가 있다.

미녹시딜은 1970년대 초에 고혈압 치료를 위한 혈관확장제로 개발되었으나, 부작용으로 다모증이 보고되면서 발모촉진제로 사용되고 있다[6]. 미녹시딜의 발모효과에 관한 작용 기전은 아직 명확하게 밝혀져 있지 않지만 혈관확장을 통한 영양공급 증가 및 potassium channel opening 효과 등이 모발 성장에 관여하는 것으로 생각되고 있다. 또한 미녹시딜(1%)은 VEGF 발현을 유도하고, 고혈압 치료제로 사용된 만큼 혈관내피세포 및 평활근세포를 자극하여 혈액순환을 개선하고 follicular keratinocyte를 포함한 모발 성장에 사용되는 세포들의 성장을 촉진시킴으로써[7] 발모를 촉진하는 것으로 여겨지고 있다. 미녹시딜을 탈모 부위에 도포한 실험에서는 남성뿐만 아니라 여성에서도 발모를 촉진시켰고[8] hair follicle이 굵어지고 모발의 지름이 커져 모발의 굵기가 굵어지는 효과를 보였다[9].

피나스테라이드는 전립선 비대증 치료제로 개발 되었다가 현재는 탈모 치료제로 사용되고 있으며[10,11], 남성호르몬인 테스토스테론을 DHT (dihydrotestosterone)으로 변환시키는 5-α-redutase의 저해제로 혈중 DHT 농도를 낮추어 탈모의 진행을 늦추고 발모 효과를 나타낸다[12,13]. 하지만 피나스테라이드의 모발성장 촉진 효과를 계속 유지시키기 위해서는 지속적인 약물 복용이 요구되며 남성의 경우 성기능 장애, 임신한 여성이 복용할 경우 기형아 출산과 같은 부작용이 유발됨이 보고되어 있으며, 미녹시딜의 경우 체중증가, 부종, 심장박동증가, 협심증, 피부염, 가려움증, 홍반 및 피부 건성화와 같은 이상반응이 보고되고 있다[14,15].

기존 제품의 이러한 단점을 보완하여 지속적인 사용에도 안전하고 효과가 있는 제품에 대한 요구에 대응하여 최근에는 전통적으로 탈모예방 및 발모에 효능이 있는 것으로 알려진 한방 처방 및 한약재를 비롯한 천연물에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

동의보감에서는 髮屬腎, 髮者血之餘라하여 모발은 腎기능과 밀접한 관련이 있으며, 血이 부족해지면 발생한다고 하였다[16]. 따라서 양모, 탈모방지 및 예방에는 보혈(補血)과 보기(補氣)를 원칙으로 하는 것으로 알려져 있다. 또한 경옥고(瓊玉膏)는 延年益壽不老의 生精補氣 하는 처방으로 동의보감에서 塡精, 補髓하여 毛髮을 검게 하고 齒牙를 소생시키며, 萬身이 俱足하여 百病을 제거하는 효능이 있다고 하였다[17]. 따라서 본 연구는 인삼(Ginseng Radix), 백복령(Poria), 생지황(Rehmanniae Radix) 및 꿀의 원방에 補肝腎, 益精血하는 하수오(Polygoni Multiflori Radix)[18]를 첨가한 경옥고가미방을 시료로 하였으며, 5% 미녹시딜을 양성대조물질로 사용하여 자발적 탈모가 진행되는 특징을 가진 C57BL/6 마우스에서 경옥고가미방이 모발 성장에 미치는 영향을 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

6주령의 C57BL/6 수컷 마우스는 효창사이언스에서 입수하였으며, 온도 23±3℃, 상대습도 50±10%, 12시간 조명주기 조건하에서 식이와 식수는 자유롭게 섭취토록 하였으며 7일간의 적응기간 후 실험에 사용하였다.

2. 시료의 준비

본 시험에 사용한 인삼(한국산), 하수오(한국산), 백복령(한국산), 숙지황(한국산) 및 꿀은 대원한약국(대구)에서 구입하여 냉장 보관하여 사용하였다. 인삼, 하수오, 백복령, 숙지황은 각각 10% propylene glycol, 10% 1, 3-butylene glycol에 침지하여 50℃에서 48시간 방치하여 추출하였다. 마우스 도포 시료인 YNS-10은 인삼, 하수오, 백복령, 숙지황 추출물과 꿀을 1:1:1:1:0.2 비율로 혼합하여 사용하였다.

시험기간 동안 정상군에 도포한 추출용매, 양성대조군에 도포한 5% Minoxidil 및 시료인 YNS-10은 4℃에서 냉장하여 보관하였다.

3. 시료의 도포

펜토바비탈(50 mg/kg, 엔토발, 한림제약)을 복강 주사하여 마취시킨 다음 이발기를 이용하여 마우스의 등 부위 털을 제거하였다. 피부 속에 남아있는 모낭과 미세한 털을 제거하기 위하여 제모제(니크린, 일동제약)를 피부에 도포하여 5분간 방치한 후 제모주걱을 이용하였다. 제모된 C57BL/6 수컷 마우스는 미지근한 물로 피부에 남아있는 제모제를 씻어내고, 24시간 회복기를 거친 뒤 정상군(normal), 미녹시딜군(minoxidil), 실험군(YNS-10)으로 분리하여 각각의 약물을 매일 1회 제모 된 등 부위에 마리당 200ul씩 도포하였다. 정상군은 추출용매(PG:1:3-BG:d-Water=10:10:80)를, 미녹시딜군은 추출용매에 용해한 5% minoxidil 용액을, 시험군은 YNS-10 용액을 도포하였다.

4. 육안적 발모 관찰

시료를 도포한 등 조직의 발모 변화를 관찰하기 위해 디지털사진기를 이용하여 5일 간격으로 촬영하였다.

5. Folliscope 영상분석

7일, 14일, 21일에 적출한 조직을 분석시까지 4% 포름알

데히드 용액에 고정하여 보관한 후 채취한 시료를 동일 시점에서 분석하였다. 밀도 및 굵기 변화 관찰을 위해 적출된 조직을 와트만 종이에 평평하게 잘 펴서 의료용 카메라를 이용하여 촬영한 후 2개 부위의 일정한 면적을 정하여 Folliscope (Ver. 2.8, Lead M, Korea)로 털의 밀도와 굵기를 측정하였다.

6. Western blotting

적출한 조직을 lysis buffer (50 mM Tris pH7.8, 120 mM NaCl, 2mM EDTA, 1% Triton X-100)에 넣고 분쇄기로 분쇄한 후 원심분리기를 이용하여 용해성 단백질을 추출하였다. Bradford법으로 단백질을 정량한 후 12% SDS-PAGE gel에서 전기영동하여 크기별로 단백질을 분리한 후 전기적인 방법을 이용하여 PVDF membrane으로 분리된 단백질을 옮겼다. PVDF membrane은 5% skim milk 용액으로 1시간 동안 blocking 한 뒤 1차 항체인 anti-insulin-like growth factor (IGF)-1 antibody (Upstate, USA)와 anti-vascular endothelial growth factor (VEGF) antibody (Santa Cruz, USA)를 각각 1:1,000으로 희석하여 4℃에서 12시간 이상 반응시켰다. 이 후 1x PBST 로 10분씩 3회 세척하고, 2차 항체를 실온에서 1:1,000으로 희석하여 1시간 반응시켰다. 이후 1xPBST로 10분씩 3번 세척하고 ECL substrate와 반응시킨 후 Image 분석기(Gel Documentation system, UVP, USA)를 이용하여 각 factor의 발현을 조사하였다.

7. 통계방법

실험결과의 통계 처리는 SPSS 11.5 (SPSS Inc, USA)를 이용하였으며 one-way-ANOVA를 실시, 분석결과에 대한 $p<0.05$의 수준에서 LSD 다중 검정법으로 사후 검정을 실시하여 각 처리구간의 평균치에 대한 유의성을 분석하였다.

결 과

1. YNS-10 의 모발 성장에 미치는 효과

시료의 발모 효과를 보기 위해 21일 동안 제모 된 생쥐 등에 시료를 도포하였다. 제모 후 5일째 까지는 모든 군에서 발모 상태에 대한 차이가 거의 없었다. 10일째 정상 군에서는 hair follicle에 의한 표피의 색 변화가 일부분 관찰되었다. 반면, 미녹시딜이 도포된 군에서 검게 변한 등 표피의 색 변화가 전반적으로 관찰되었고 실험 시료인 YNS-10을 도포한 실험군에서도 전반적인 색 변화가 관찰되었다. 15일째 정상 군에서 검게 변한 색변화가 뚜렷하게 관찰 되었고 육안으로 관찰할 수 있는 발모도 부분적으로 나타났다. 반면, 미녹시딜군과 실험군에서는 현저하게 발모가 진행되었음을 확인할 수 있었다 (Fig 1). 결과적으로 시료 YNS-10은 정상 군보다 발모를 촉진시키며 그 정도가 미녹시딜과 유사한 것으로 확인되었다.

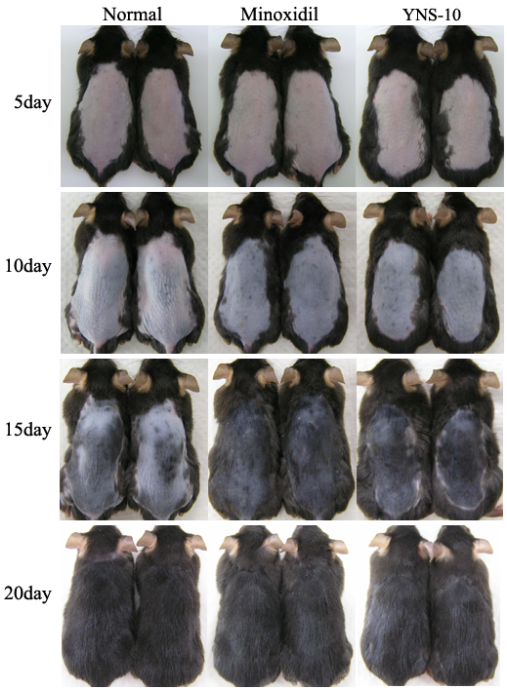

Fig. 1. Overall feature of growing hair in an alopecia model of C57BL/6 mice.

2. 모발의 밀도 및 굵기 변화에 미치는 영향

모발 밀도는 변화가 가장 뚜렷이 나타나는 14일에 측정하여 비교하였다. 미녹시딜군은 평균 88.4±8.45 개/cm^2의 모발 밀도를 보여 정상군 42.8±4.83 개/cm^2의 2배 이상 높은 모발밀도를 보였다(Fig 2). YNS-10도 미녹시딜과 유사한 효과를 보여 평균 91.4±8.6 개/cm^2로 관찰되어 정상 군에 비해 유의적으로 증가하였다(Fig 2). 이 결과는 육안 관찰에서 나타났던 결과와 일치되는 것으로 YNS-10 시료는 미녹시딜과 유사한 모발 밀도의 증가 효과가 있는 것으로 확인되었다.

한편, 모발의 굵기 변화 역시 14일에 측정하여 비교하였다. 미녹시딜군의 평균 모발 굵기는 0.144±0.032 mm로 정상군 0.065±0.016 mm의 2배 이상이었다(Fig 3). 실험 군의 모발 굵기는 0.141±0.07 mm로 정상군의 2배 이상으로 미녹시딜의 효과와 유사 하였고 정상 군에 비해 유의적인 증가를 보였다(Fig 3). YNS-10은 굵기 변화에서도 육안 관찰과 일치되는 결과를 보여 주었으며 미녹시딜과 유사한 모발의 굵기를 증가시키는 효과도 확인되었다.

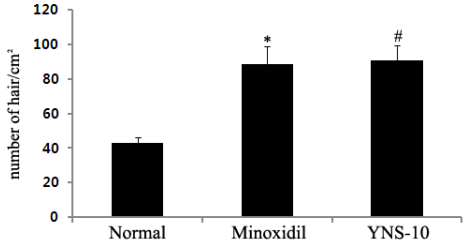

Fig. 2. Effect of YNS-10 on hair density in alopecia model of C57BL/6 mice. Results are the mean±SE of 5 mice per group. * ; $p<0.05$, vehicle vs minoxidil, # ; $p<0.05$, vehicle vs YNS-10

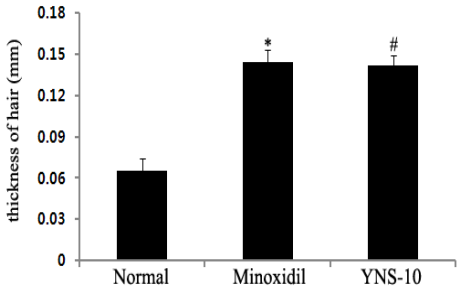

Fig. 3. Effect of YNS-10 on hair thickness in an alopecia model of C57BL/6 mouse. Results are the mean±SE of 5 mice per group. * ; p<0.05, vehicle vs minoxidil, # ; p<0.05, vehicle vs YNS-10

3. 모발 성장 인자 관련 단백질 발현에 미치는 영향

모발 성장은 성장의 핵심부인 진피유두에 생장을 촉진하고 이에 영향을 받은 진피유두 세포들이 모낭 상피세포에 성장인자 혹은 저해인자를 방출하여 성장과 퇴화 상태로 순환한다. 알려진 성장인자로는 insulin-like growth factor (IGF)-1, vascular endothelial growth factor (VEGF)들이 있다[19]. 본 실험에서는 YNS-10에 의한 IGF-1과 VEGF 발현 변화를 14일째에 관찰하였다.

① IGF-1 발현에 미치는 영향

Insulin-like growth factor (IGF)-1은 in vitro에서 배양된 모낭 및 상피세포의 성장을 촉진하며 모발 세포의 세포사를 방지하며 모발 성장을 촉진한다고 알려져 있다. 또한 IGF transgenic 동물에서 모발의 성장이 유의성 있게 증가한다는 보고가 있다[20]. YNS-10에 의해 촉진된 모발의 성장이 IGF-1 와 관련이 있는지 확인하기 위해 시험물질 도포 개시 후 7일 및 14일째에 채취한 조직을 사용하여 IGF-1의 발현을 확인하였다. IGF-1의 발현의 증가가 미녹시딜군과 YNS-10 군에서 뚜렷하게 나타났다. 7일째 미녹시딜에 의한 IGF-1의 발현은 정상군에 비해 155±20 % 증가 하였고 YNS-10을 처리한 군은 137±10 % 증가함을 보였다 (Fig 4).

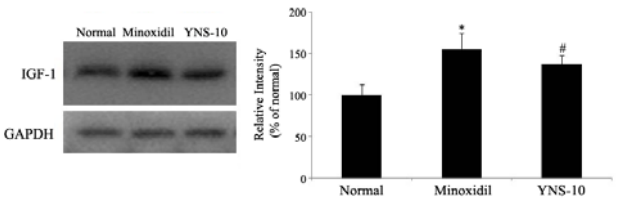

Fig. 4. Effect of YNS-10 on IGF-1 protein expression in an alopecia model of C57BL/6 mice. Results are the mean±SE of 5 mice per group. * ; p<0.05, normal vs minoxidil, # ; p<0.05, normal vs YNS-10

② VEGF 발현에 미치는 영향

VEGF는 혈관내피 성장인자(Vascular endothelial growth factor)로서 대표적인 성장인자 중 하나로 알려져 있다. 이는 혈관 내피를 성장시켜 혈액 순환을 개선하여 모발의 성장과 모근세포의 분화를 강화시키는 인자로 알려져 모발관련 연구에 사용되는 지표인자 중 하나이다. YNS-10의 발모 촉진 효과가 혈액순환과 관련이 있는지 확인하기 위해 시험물질 도포 개시후 7일 14일째 조직을 사용하여 VEGF의 발현을 확인하였다. 결과 YNS-10군에서 VEGF의 발현이 증가되었음을 확인할 수 있었고 미녹시딜 수준의 유의적 증가가 확인되었다. 미녹시딜에 의한 VEGF의 발현은 정상군에 비해 157±17 % 증가 하였고 YNS-10을 처리한 군은 168±20 % 증가함을 보였다(Fig 5).

IGF-1와 VEGF 는 모두 발모 기전을 확인할 수 있는 대표적인 지표인자들인데 이들의 발현을 14일째 확인한 결과 미녹시딜 및 YNS-10의 발모효과가 모발 성장인자들의 발현과 연관이 있는 것으로 나타났다. 따라서 미녹시딜과 YNS-10 약물은 모발 성장과 관련된 유전자의 발현을 촉진시킴으로써 발모 효과를 나타낸다고 생각된다. 즉, YNS-10의 발모 촉진효과는 IGF-1의 발현을 증가시켜 모발의 성장 및 모근세포의 분화를 촉진하고, VEGF의 발현을 촉진함으로써 혈액순환이 개선되어 발모가 촉진한다고 사료된다.

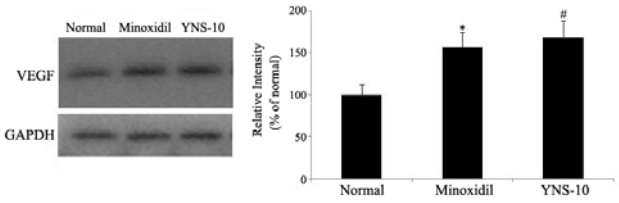

Fig. 5. Effect of YNS-10 on VEGF protein expression in an alopecia model of C57BL/6 mice. Results are the mean±SE of 5 mice per group. * ; p<0.05, vehicle vs minoxidil, # ; p<0.05, vehicle vs YNS-10

고 찰

실험에 사용한 C57BL/6 마우스는 7주령에 이르러 모발주기의 휴지기가 시작되어 자발적인 탈모가 일어나며 melanocyte가 모낭에 한정적으로 존재함으로 멜라닌 합성이 모발의 성장 주기와 일치하게 나타난다. 즉, 마우스의 피부색으로 모발성장 주기를 판정할 수 있는 장점 때문에 대부분의 탈모실험에서 실험동물로 사용된다. 한편 실험에 사용된 경옥고 처방은 항산화작용[21], 피로회복[22], 항우울증 효과[23] 등이 보고되어 있으며, 가미방에 대한 연구들[24,25]도 있지만 하수오를 가미한 처방에 대한 연구 보고는 없었다.

본 실험에서는 7주령 C57BL/6마우스의 제모한 등 피부 표면이 분홍색을 띤 휴지기였음을 확인하였고 실험이 진행됨에 따라 분홍색의 피부 표면이 회색과 검은색으로 변해가므로 모발주기가 휴지기에서 성장기로 전환되는 것을 육안적으로 확인할 수 있었다.

미녹시딜과 경옥고가미방 추출물인 YNS-10을 도포한 마우스에서는 제모 후 7일까지는 분홍색을 띠지만 10일째부터 모낭이 회색으로 변화하여 피부 표피가 회색으로 변하였다. 이런 변화는 10일과 12일 사이에 가장 뚜렷하게 관찰되었고 용매만 처리한 정상군에서는 모낭의 회색변화가 거의 관찰되지 않았다. 15일째는 미녹시딜과 YNS-10을 처리한 마우스에서 검은색 표피와 육안으로도 모발의 성장을 확인할 수 있

었고 정상군에서는 짙은 회색의 모낭과 검은색의 피부가 관찰되었지만 정도가 미미하였다. 본 연구에서 YNS-10은 모발성장 촉진양상이 양성대조군이 미녹시딜과 유사하게 나타났다. 또한 털의 밀도와 굵기를 기기적으로 평가하였는데, 이때 사용한 Folliscope는 phototrichogram의 일종으로 피부측정 통합장치에 연결된 디지털 프로브 특수 외부센서가 대기 상태를 감지하고, 감지된 자료는 프로그램과 연결되어 작동 시에 내부 온습도 상태가 자동으로 측정되어 각 결과 값들과 함께 저장되는 장비이다. 따라서 환경적인 요소(특히, 온도와 습도)를 반영함으로써 살아있는 피부조직에 대한 정확한 측정을 가능하게 하여, 탈모 환자들의 정확한 탈모상태 및 치료 후 효과를 측정할 수 있는 분석 장비이다. Phototrichogram 방법은 가장 이상적인 모발성장 평가방법이며, 비침습적인 방법으로서 여러 가지 모발 관련 지표들을 반복적으로 신뢰성 있게 관찰할 수 있는 장점을 가지고 있다[26]. 본 연구에서는 발모양상이 가장 현저하게 나타난 14일째에 모발 밀도와 굵기를 측정하였다. 결과 YNS-10 처리 마우스가 모발밀도 뿐 아니라 모발 굵기에 있어서 미녹시딜과 유사한 효과를 유의적으로 보여 주었다.

한편, 본 실험에서 육안적인 모발의 성장, 털의 밀도 및 굵기의 변화 뿐 아니라 모발성장인자인 IGF-1와 VEGF의 변화를 관찰해 본 결과 모든 부분에서 실험군인 YNS-10군이 양성대조군인 미녹시딜군의 변화에 뒤지지 않는 효과를 보였다. 발모관련 단백질인 IGF-1은 in vitro에서 배양된 hair follicle 뿐만 아니라 epithelial cell의 성장을 촉진한다[19]. 더구나, IGF transgenic animal에서 hair elongation이 유의성 있게 증가한다[20]. 본 실험에서 YNS-10의 도포에 따라 14일째에 IGF-1 및 VEGF의 발현이 증가함을 보였다. 분자생물학적인 분석 결과를 근거로 YNS-10의 기전을 유추해 보면 IGF와 VEGF 등 성장인자들을 조절하여 hair follicle 및 주변 조직의 성장을 촉진하고 혈액순환을 개선하므로 발모를 촉진하는 것으로 사료된다.

결 론

요즈음 탈모는 성별과 나이에 상관없이 증가하는 추세로, 탈모에 대한 유효한 약제의 개발이 매우 중요시 되고 있다. 현재 시중에서 발모제로 잘 알려진 약물인 미녹시딜은 실험동물에서 모낭을 자극하여 모낭이 충분히 길어지고 모발 재성장에 도움을 준다고 알려져 있어 현재 발모촉진제로 사용하고 있다. 하지만 서론에서도 언급한 것 같이 미녹시딜은 여러 가지 부작용을 초래하므로 본 실험에서는 경옥고에 하수오를 추가한 경옥고가미방 추출물 시료(YNS-10)를 이용하여 실험동물에서 모발 성장에 효과가 있는지를 평가하여 부작용이 없는 발모촉진 시료를 확보하고자 하였다. 결과, YNS-10은 미녹시딜과 유사한 효과를 보이므로 발모를 촉진하는 유용한 시료로서 헤어토닉이나 발모제품에 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2010 대구광역시 지역기반육성기술개발사업(RD20100026)의 지원에 의하여 이루어진 것입니다.

참고문헌

1. Stenn KS, Paus R. Controls of hair follicle cycling. Pysiological Reviews American Physiological Society 2001 ; 81 : 449-494.
2. Reynolds AJ, Liver RG, Jahoda CAB. Dermal cell populations show variable competence in epidermal cell support : stimulatory effects of hair papilla cells. J Cell Sci. 1991 ; 98 : 75-83.
3. Harrtori M, Ogawa H. Biochemical analysis of hair growth from the aspects of aging and enzyme activities. J Dermatol. 1983 ; 10 : 45-54.
4. Kim CD, Choe YS, Shim CS, Kim KJ. Interon b secreted from human hair demal papilla cells inhibits the growth of outer roots health cells cultured in vitro. Journal of Biochemical and Biophysical Research Communication 2002 ; 290 : 1133-1138.
5. Hibino T, Nishiyama T. Role of TGF-b2 in the human hair cycle. J Dermatol Sci. 2004 ; 35 : 9-18.
6. Zappacosta AR. Reversal of boldness in patient receiving minoxidil for hypertension. N Eng J Med 1980 ; 303 : 1480-1481.
7. Hamamoto T, Mori Y. Sulfation of minoxidil in keratinocytes and hair follicles. Res Commun Chem Pathol Pharmacol 1989 ; 66 : 33-44.
8. Messenger AG and Rundegren J. Minoxidil : mechanism of action on hair growth. Br J Dermatol. 2004 ; 150 : 186-194.
9. Headington JT, Novak E. Clinical and histologic studies of male pattern baldness treated with topical minoxidil. Curr Ther Res Clin Exp 1984 ; 36 : 1098-106.
10. Messenger AG, Rundegren J. Minoxidil : Mechanism of action on hair growth. Br J Dermatol. 2004 ; 150 : 186-194.
11. Shapiro J, Price VH. Hair regrowth therapeutic agents. Dermatol. Clinics. 1998 ; 16 : 341-356.
12. Imperato-McGinley J, Guerrero L, Gautier T, Peterson RE. Steroid 5a-reductase deficiency in man : an inherited form of male pseudohermaphroditism. Science 1974 ; 186 : 1213-1215.
13. Dallob AL, Sadick NS, Unger W, Lipert S Geissler LA, Gregoire SL, et al. The effect of finasteride, a 5a-reductase, on scalp skin testosterone and dihydrotestosterone concentrations in patients with male pattern boldness. J Clin Endocrinol Metab 1994 ; 79 : 703-706.
14. Mackay A, Isles C, Henderson I, Fife R, Kennedy AC. Minoxidil in the management of intractable hypertension. Quarterly J of Medicine 1981 ; 50 : 175-190.

15. Hageman T, Schlutter-Bhmer B, Allam JP, Bieber T, Novak N. Positive lymphocyte transformation test in a patient with allergic contact dermatitis of the scalp after short-term use of topical minoxidil solution. Contact Dermatitis 2005 ; 53 : 85-97.
16. Huh J. Donguibogam. Seoul : Namsan-dang. 1983 : 307.
17. Huh J. Donguibogam. Seoul : Namsan-dang. 1983 : 78.
18. Herbology compilation committee of korean oriental medical schools, Herbology (Bonchohak). Seoul : Younglim-sa. 2007 : 635.
19. Philpott MP, Sanders DA, Kealey T. Effects of insulin and insulin like growth factors on cultured human hair follicles : IGF-1 at physiologic concentrations is an important regulator of hair follicle growth in vitro. J Invest Dermatol. 1994 ; 102 : 857-861.
20. Tang L, Bernado O, Bolduc C, Lui H, Shapiro J. The expression of insulin-like growth factor 1 in follicular dermal papilae correlates with therapeutic efficacy of finasteride in adnrogenetic alopecia. J Am Acad Dermatol. 2003 ; 49 : 229-233.
21. Lee SL, Shin YJ, Park JH, Kim SM, Park CS. An analysis of the *Kyungoko*'s ingredients and a comparison study on anti-oxidation effects according to the kinds of extract. Kor. J. Herbology 2008 ; 23 : 123-136.
22. Joo HC. The effects of KYUNGOK-KO prescription for relieving fatigue in aerobics. Doctoral Thesis, Dept. of Physical Education, Graduate school of Chungang University 2004.
23. Park SW. The experimental study on anti-inflammatory and anti-depressive effects of Gyungokgo. Master's Thesis, College of Oriental Medicine, Graduate School of Dongguk University 2010.
24. Moon JB, Kim YJ, Yi TH. Methods of evaluating efficacy of hair growth following treatment for alopecia in oriental medicine. J. of Korean Oriental Medical Society. 2006 ; 27(2) : 57-69.
25. Shin BY. Anti-Amnesic effects of a herbal medicinal prescription modified from Kyung-Ok-Ko on scopolamine- or transient forebrain ischemia-induced memory impairment. Doctoral Thesis, Department of Pharmacy, Graduate School of Kyung Hee Unversity 2011.
26. Jung BK. The effect of KyungOcGogamibang on the growth of the rats. Doctoral Thesis, Department of Oriental Medicine, Graduate School of Daegu Haany University 2009.