

여정실 물 분획물이 인체 진피 섬유아세포의 증식에 미치는 영향

임난영¹ · 김대성³ · 고경숙¹ · 문연자² · 우원홍²

¹원광대학교 뷰티디자인학과, ²원광대학교 한의과대학 해부학교실
³원광대학교 한의학전문대학원 한약자원개발학과

Effect of *Fructus Ligustri Lucidi* H₂O Extract on Cell Proliferation in Hman Dermal Fibroblast

Nan-Young Lim¹, Dae-Sung Kim³, Kyung-Sook Ko¹, Yeun-Ja Mun², Won-Hong Woo²

¹Dept. of Beauty Design Graduate School, Won-Kwang University

²Dept. of Herbal Resources, Professional Graduate School of Oriental Medicine, Won-Kwang University

³Dept. of Anatomy, College of Oriental medicine, Won-Kwang University

Abstract

Objectives : In this study, we investigated the effect of *Fructus Ligustri Lucidi* H₂O fraction (FLLW) on cell proliferation, and the phosphorylation of ERKs and Akt in human dermal fibroblast neonatal (HDFn).

Methods : After treatment of HDFn with FLLW, MTT assay was performed to quantitatively determine cellular viability. The ERK and Akt pathways were analyzed in vitro by Western blot in a HDFn. HDFn proliferation after FLLW and minoxidil treatment in the absence or presence of PD98059, a MEK inhibitor, LY294002, and a PI3K inhibitor, was examined by Western blot or MTT assay.

Results : FLLW increased cell proliferation in a dose-dependent manner and minoxidil used as positive control also induced cell proliferation in HDFn. FLLW increased the phosphorylation of ERK and Akt. In addition, minoxidil, too, induced the phosphorylation of ERK and Akt in HDFn. PD98059 and LY294002 significantly attenuated FLLW-inducible p-ERK and p-Akt expression and proliferation in cultured HDFn.

Conclusions : Our results suggest that FLLW stimulates the growth of fibroblast cells through ERK and Akt pathways. Therefore, FLLW is a potential agent for the inducer of fibroblast growth.

Key words : Human Dermal Fibroblast cells, *Fructus Ligustri Lucidi*, minoxidil

1. 서 론

상처치유는 진피 섬유아세포와 표피 각질세포의 분화, 이동, 증식과 같은 여러 가지 세포의 특징과

관련된 복합적인 생리학적 반응이다^{1,2)}. 창상의 정상적인 상처치유과정은 지혈단계, 염증단계, 증식단계, 상처 수축의 단계를 거치고 다양한 성장인자, cytokine, integrin, 세포외 기질의 생성 등 모든 과정이 균형을 이루면 조절되어야 한다. 그러나 창상의 정도가 심하거나 각 단계와 여러 인자들이 균형을 이루지 못하는 경우 상처치유가 늦어지거나 흉터가 남게 된다³⁻⁵⁾. 정상적인 상처치유과정에서는 상처부위의 염증세포에서 분비되는 매개체들의

· 교신저자: 문연자, 전북 익산시 신용동 344-2번지
원광대학교 한의학전문대학원 507호(해부학교실)
Tel. 063-850-6942, Fax. 063-850-5195
E-mail: yjmun@wku.ac.kr
· 투고: 2011/08/27 심사: 2011/09/05 채택: 2011/09/10

신호에 의해 대식세포들이 상처 주위로 이동하고, cytokine 등을 분비하면 상처부위에서 섬유아세포 등의 이동과 증식이 진행되면서 상처부위의 진피 층이 기질을 형성하고 상처가 치유된다.

섬유아세포에서 합성되는 type III collagen, type IV collagen, fibronectin은 인체 모유두세포(HHDPc)에서도 합성되는 것으로 알려져 있다⁶⁾. 모유두세포는 진피 응축 형성 세포(Cells forming a dermal condensation)에서 유래된 것으로 생각되며, 진피 응축 형성 세포는 섬유아세포 종류 중 하나 이므로 모유두세포는 섬유아세포로부터 유래되었다고 볼 수 있다⁷⁾. 이러한 모유두세포의 증식에 관여하는 것으로 알려진 미녹시딜(minoxidil; 2,4-diamino-6-piperidinopyrimidine-3-oxide)은 피리미딘(pyrimidine) 유도체로서 1개월 이상 복용 시 전신적인 다모증 발생⁸⁾, 남성형 탈모증에서 모발의 재성장⁹⁾ 등의 효능이 보고되어 탈모 개선에 많이 사용되고 있다¹⁰⁾. 이와 같이 미녹시딜은 모유두세포의 증식과 탈모개선 효과가 있는 것으로 보고되어져 있는데, 모유두세포는 섬유아세포로부터 유래되었다고 볼 수 있으므로 섬유아세포의 증식에도 영향을 미칠 것이라고 가정하고 본 실험에 사용하였다.

여정실(*Fructus Ligustri Lucidi*)은 물푸레나무과(Oleaceae)에 속하는 광나무(*Ligustrum japonicum*) 및 당광나무(*Ligustrum lucidum*)의 익은 열매를 말린 것으로 주요성분으로는 올레아놀산, 아세트올레아놀산, 올손, 만니톨, 포도당, D-만니트(d-mannite), 올레익산(oleic acid), 리놀레익산(linoleic acid) 등이 있다. 맛은 쓰고 달며 그 성질은 평(平)하고 간(肝), 신(腎), 이경(二經)에 작용하여 한의학에서는 머리카락이 희어지는 등의 병증을 치료한다 하였다¹¹⁾. 최근 보고에 따르면 여정실 핵산추출물은 멜라닌 합성을 억제, 항산화 효과, 면역력 증진 등의 효능이 있는 것으로 밝혀졌다^{12,13)}. 그러나 인체 진피 섬유아세포의 증식에 대한 연구는 보고되지 않았다. 따라서 부작용이 적고 탈모를 개선시킬 수 있는 천연 약제에 대한 관심이 늘어나고 있는 실

정이다. 본 연구에서는 여정실의 H₂O 분획물과 미녹시딜이 섬유아세포의 증식 및 신호전달 기전에 미치는 영향을 조사하였으며, 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II . 재료 및 방법

1. 세포주 및 세포배양

인체 피부 섬유아세포(Human dermal fibroblast cells)를 Cascade Biologics에서 분양받아 10% fetal bovine serum(FBS)과 항생제(Antibiotic antimycotic)가 포함된 Dulbecco's Modified Eagle's medium(DMEM)과 함께 Culture dish에 seeding하여 37°C, 5% CO₂가 포함된 배양기(incubator)에서 배양하였다.

2. 시약

FBS와 DMEM은 Gibco(USA)사 제품을 사용하였으며, phospho-p44/42 MAP kinase(Thr202/Tyr204) antibody와 p44/42 MAP kinase antibody 그리고 p-Akt(S473) rabbit antibody와 Akt rabbit antibody, goat anti-rabbit IgG(H+L)는 cell signaling사 제품을 사용하였다. western blotting detection reagent는 amersham biosciences(Buckinghamshire, England)사 제품을, non-fat skim milk는 Becton(Le Pont de Claix, France)사 제품을, dimethylsulfoxide(DMSO), bovine serum albumin(BSA), phenylmethyl sulfonyl fluoride(PMSF), leupeptin, aprotinin, sodium fluoride(NaF), sodium orthovanadate(Na₃VO₄), N,N,N,N'-tetramethylethylenediamine(TEMED), 미녹시딜(minoxidil), 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide(MTT), trizma base는 Sigma사 제품을, PD98059, LY294002는 CALBIOCHEM사 제품을, protein assay는 Bio-Rad(CA, USA)사 제품을, glycine은 Biotechnology사

제품을 사용하였다.

3. 사용기기

원심분리기(centrifuge HA-12, micro 17TR centrifuge), clean bench, CO₂ incubator는 한일기기(Inchun, Korea)사 제품을, ELISA reader는 Bio-TEK(Winooski, USA)사 제품을, electrophoresis power supply는 Amersham(Buckinghamshire, England)사 제품을, ChemiDoc image analysis는(Bio-Rad, CA, USA)사 제품을 사용하였다.

4. 여정실 H₂O(물) 분획물 조제

실험에 사용된 여정실(*Fructus Ligustri Lucidi*)은 제주도에서 생산된 자연산을 제천약초를 통해 구입하여 사용하였다. 건조시료 중량의 10배의 메탄올을 가하여 추출하였고, 각 용매별 분획은 메탄올 추출물에 증류수 0.7 L를 첨가하고 증류수와 같은 양의 헥산을 더해 용출되도록 방치한 후 용매층을 감압농축하고 동결건조 하여 헥산 분획물을 얻었다. 남은 수용액에 에틸아세테이트(ethyl acetate) 및 부탄올(n-butanol)을 넣고 동일한 방법으로 추출하였으며, 본 실험에 사용된 여정실 H₂O 분획물은 부탄올 추출물을 얻고 난 나머지를 감압 농축 후 동결 건조 후 -20 °C에 보관하여 사용하였다.

5. 세포 생존율 측정

24 well plate에 섬유아세포를 0.2×10^4 cell/ml, 0.4×10^4 cell/ml, 0.6×10^4 cell/ml로 200 μ l씩 분주하여 24시간 배양 한 후 여정실 H₂O 분획물 5, 10, 25 μ g/ml과 미녹시딜 0.1, 1 μ M을 처리하여 2일, 3일, 4일 배양하였으며, 대조군에는 dimethylsulfoxide (DMSO)를 처리 하였다. 0.05% MTT 용액을 넣어 3시간, 37°C에서 배양한 다음 상층액을 제거하고 formazan 침전물에 1 ml의 DMSO를 가하여 15분

간 실온에서 녹인 후 96well plate에 200 μ l씩 분주하여 570 nm의 파장에서 ELASA reader로 흡광도를 측정하여 세포 생존율을 계산하였다.

6. Western blot analysis

섬유아세포(0.8×10^4 cell/ml)를 10 cm배양용기에 하루 동안 배양한 뒤 serum-free media로 교체하고 1일 배양한 후 여정자 H₂O 분획물 10, 25 μ g/ml와 미녹시딜을 0.1 μ M을 처리하였다. 30분 후 세포를 수거하여 lysis buffer(1×RIPA buffer 1 ml, 10 mM phenylmethyl sulfonyl fluoride(PMSF), 1 μ g/ml Aprotinin, 1 μ g/ml Leupeptin, 20 mM Na₃VO₄, 50 mM NaF)로 4°C에서 30분간 용해시킨 후 4°C, 15,000 rpm에서 30분간 원심분리 하여 상층액을 취하였다. 단백질은 Bio-Rad Protein Assay 시약을 이용하여 정량하였고, 30 μ g 단백질과 2×sample buffer(1 ml glycerol, 0.5 ml β - mercaptoethanol, 3 ml 10% SDS, 1.25 ml 1 M Tris-HCl, 1~2 μ g bromophenol blue)를 동량으로 혼합한 후 10% SDS polyacrylamide gel에서 전기영동 하였다. PVDF membrane으로 전이시키고 5% non-fat skim milk로 blocking 하였다. 1차 항체는 anti-p-Akt, anti-total Akt, anti-p-ERK, anti-total ERK를 사용하였다.

8. 통계처리

실험 결과는 mean \pm S.D로 표시하였다. 각 군 간의 통계적 유의성에 대한 검증은 one-way ANOVA test를 이용하여 p-value를 구하여 유의성을 검증하였다. p<0.05 이하인 경우 유의성을 인정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 미녹시딜과 여정실 H₂O 분획물이 세포증식에 미치는 영향

선행된 연구에서 미녹시딜과 여정실 H₂O 분획물은 모유두 세포에서 세포증식을 유도하였다(data not show). 최근 보고에서 미녹시딜 1 μ M을 human hair follicle culture model에 처리하였을 때 모발의 성장을 유도하였다고 하였다¹⁴⁾. 모유두 세포는 섬유아세포로부터 특수하게 분화된 세포이기 때문에 미녹시딜과 여정실 H₂O 분획물은 진피의 섬유아세포에서도 세포증식을 유도할 것이라고 가정하였다. 여정실 H₂O 분획물과 미녹시딜이 섬유아세포의 세포증식에 어떠한 영향을 미치는지 조사 하기 위하여 미녹시딜 0.1, 1 μ M과 여정실 H₂O 분획물 5, 10, 25 μ g/ml로 각각 처리하여 2일, 3일, 4일간 배양하였다. 실험 결과 미녹시딜은 2일 처리 군에서 대조군에 비하여 106 \pm 6.41, 109 \pm 7.64%로, 3일 처리 군에서 112.1 \pm 6.89, 123.5 \pm 3.51%로, 4일 처리 군에서 108.1 \pm 6.11, 113.6 \pm 5.37%로 세포증식을 증가시켰다(Fig. 1A). 여정실 H₂O 분획물은 2일 처리 군에서 대조군에 비하여 104.4 \pm 3.64, 105.3 \pm 2.15, 110 \pm 2.93%로, 3일 처리 군에서 118.8 \pm 5.87, 124.2 \pm 4.18, 121.9 \pm 5.1%로, 4일 처리 군에서 108.9 \pm 4.47, 116 \pm 8.73, 113.9 \pm 8.16%로 세포증식을 유도하였다(Fig. 1B). 이러한 결과로 미녹시딜과 여정실 H₂O 분획물은 섬유아세포의 증식을 유도할 수 있음을 확인하였으며, 미녹시딜 3일 처리군 중 1 μ M 처리 군과 여정실 H₂O 분획물 3일 처리군 중 10 μ g/ml 처리 군에서 세포증식 효과가 가장 좋았다.

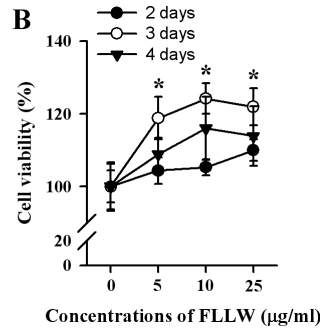
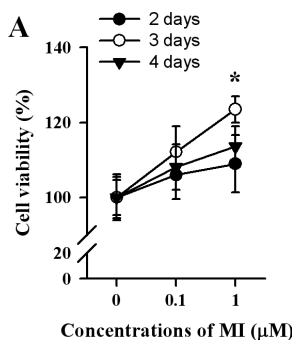


Fig. 1. Effect of Minoxidil(MI) and H₂O extract of *Fructus Ligustri Lucidi*(FLLW) on the cell viability in cultured human dermal fibroblast neonatal(HDFn) cells.

Cells were treated with concentrations of (A) MI and (B) FLLW. The results are expressed as a percentage of the control in three replicate cultures. Experiments were repeated in triplicate and the results were expressed as the mean \pm SD. * p < 0.05.

2. 미녹시딜과 여정실 H₂O 분획물이 ERK 인산화에 미치는 영향

Mitogen-associated protein kinases(MAPKs)는 serine/threonine kinases로 세포의 증식 및 분화 등 다양한 세포반응의 조절에 관여하고 있다. 구조적인 차이에 의해서 이들 단백질은 extracellular signal-regulated kinase(ERK), c-Jun N-terminal kinase(JNK/SAPK)과 p38의 3가지 아형으로 나누어진다. JNK와 p38은 다양한 화학물질이나 환경적 스트레스에 의해 활성화되고, 그 활성화는 세포사멸의 유도과 관련이 있는 경우가 많다. ERK 경로는 주로 mitogen과 growth factor에 의해서 조절되며 세포의 성장, 생존 및 분화에 중요한 역할을 담당하고 있다¹⁵⁻¹⁸⁾. 따라서 세포증식 유도 시 ERK의 변화는 매우 중요한 의미를 갖는다.

본 연구에서는 섬유아세포에 여정실 H₂O 분획물과 미녹시딜을 처리한 후 ERK 인산화가 증가하는지 확인 하였다. 실험 결과 여정사 H₂O 분획물 10 μ g/ml와 25 μ g/ml에서 대조군에 비하여 2.65배, 2.45배로 유의성 있게 증가하였고, 미녹시딜은 대조군에 비하여 2.4배가 증가되었다(Fig. 2). 이러한

결과로 볼 때 여정실과 미녹시딜의 세포증식 효과는 ERK 경로를 통한 것일 가능성이 있다.

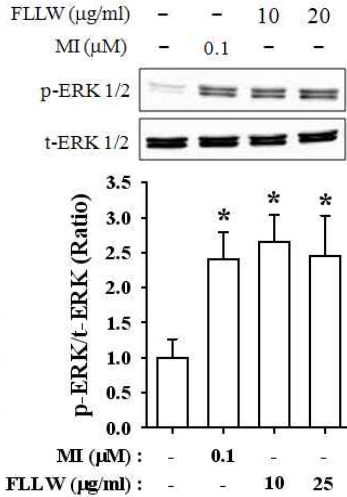


Fig. 2. FLLW increased the phosphorylation of ERK in cultured HDFn cells.

Cells were treated with MI and FLLW for 30 min. Expression of p-ERK was determined by Western blot analysis. Graph showing densitometric result on ERK activation. Experiments were repeated in triplicate and the results were expressed as the mean ± SD. **p* < 0.05.

3. 미녹시딜과 여정실 H₂O 분획물이 Akt 인산화에 미치는 영향

PI3K/AKT 경로는 세포 생존과 죽음을 결정짓는 신호전달과 관련되어 있다^{19,20}. 또한 성장인자와 cytokine은 PI3K 경로를 통하여 Akt 활성을 자극하고, Akt는 세포 자멸사를 억제한다²¹. 본 연구에서는 미녹시딜과 여정실 H₂O 분획물이 섬유아세포에서 Akt 인산화에 어떠한 영향을 미치는지 조사하였다. 실험 결과 여정자 H₂O 분획물 10 μg/ml와 25 μg/ml에서 대조군에 비하여 Akt 인산화가 2.29, 2.28배 증가하였으며, 미녹시딜은 대조군에 비하여 2.73배 증가되었다(Fig. 3). 이러한 결과는 미녹시딜과 여정실 H₂O 분획물이 섬유아세포의 세포사멸을 억제하고 생존기간을 연장시키는데 관여하고 있음을 보여준 것이다. 최근 미녹시딜이 모유두 세

포에서 ERK와 Akt 경로를 통하여 세포증식을 유도한다고 하였다²². 모유두 세포는 섬유아세포주로부터 분화되었기 때문에 섬유아세포주의 세포증식에도 유사한 영향을 주는 것으로 생각된다.

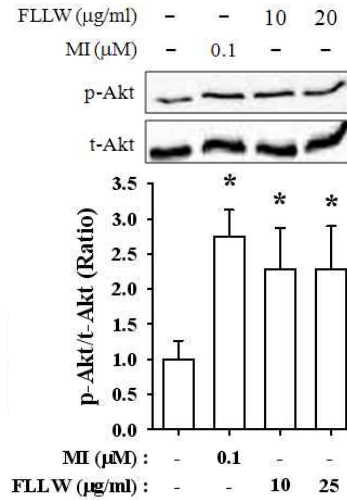


Fig. 3. FLLW increased the phosphorylation of Akt in cultured HDFn cells.

Cells were treated with MI and FLLW for 30 min. Expression of p-Akt was determined by Western blot analysis. Graph showing densitometric result on ERK activation. Experiments were repeated in triplicate and the results were expressed as the mean ± SD. **p* < 0.05.

4. PD98059와 LY294002가 미녹시딜과 여정실 H₂O 분획물에 의한 ERK와 Akt의 활성화에 미치는 영향

미녹시딜과 여정실 H₂O 분획물에 의한 섬유아세포주의 세포증식 효과가 ERK와 Akt 경로와 관련이 있는지 알아보기 위하여 ERK 경로 억제제인 PD98059와 Akt 경로 억제제인 LY294002를 사용하였다. 최근 보고에서 FGF2와 VEGF로 유도된 artery endothelial 세포의 세포증식은 MEF/ERK 경로와 PI3K/AKT 경로를 통한 것이며, PD98059 20 uM과 LY294002 10 uM까지 농도별로 처리하였을 때 세포 증식이 억제되었다고 하였다²³. 또한 NIH3T3 세포에서 ERK 경로 차단 시 증가되는

AKT의 인산화가 PI3K 억제제인 LY294002를 20 μ M 처리할 경우 AKT의 인산화가 차단된다고 하였다²⁴. PD98059를 1시간 전처리 후 미녹시딜과 여정실 H₂O 분획물을 처리하고 ERK의 활성을 조사한 결과 미녹시딜과 여정실 H₂O 분획물에 의해 활성화 되었던 ERK가 PD98059에 의해 억제되었다(Fig. 4A). 또한 LY294002를 1시간 전처리 후 미녹시딜과 여정실 H₂O 분획물을 처리한 경우 Akt의 활성이 차단되었다(Fig. 4B). 따라서 미녹시딜과 여정실 H₂O 분획물은 ERK 경로와 Akt 경로를 통하여 섬유아세포의 증식을 유도하는 것으로 사료된다.

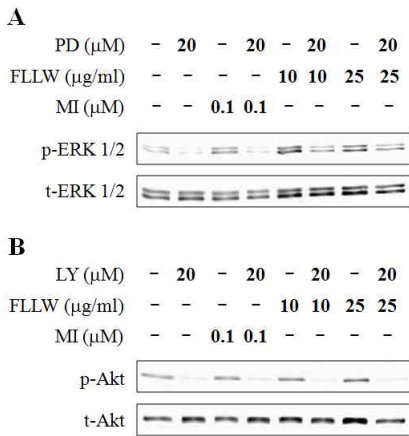


Fig. 4. Inhibitory effect of co-treatment with MEK/ERK (A) or PI3K/Akt (B) specific inhibitor and FLLW on ERK and Akt activity in HDFn cells.

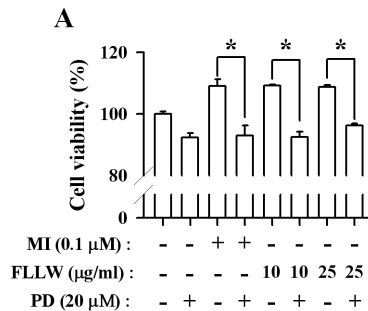
Cells were pretreated in the absence or presence of 20 μ M of MEK/ERK inhibitor PD98059 or PI3K/Akt inhibitor LY294002 for 1h and incubated with 10 and 25 μ g/ml of FLLW or 0.1 μ M of MI for 30 min.

5. PD98059와 LY294002가 미녹시딜과 여정실 H₂O 분획물에 의한 세포증식 효과에 미치는 영향

미녹시딜과 여정실 H₂O 분획물에 의해 활성화 되었던 ERK와 Akt가 PD98059와 LY294002에 의해 억제됨을 확인하였다. 이러한 결과가 섬유아세포의 증식과 연관이 있는지 알아보기 위하여

PD98059와 LY294002를 1시간 전처리 후 미녹시딜과 여정실 H₂O 분획물을 처리하고 72시간 배양하여 MTT assay를 시행하였다. 실험 결과 PD98059 처리군은 대조군에 비해 92.36%로 세포증식이 감소되었으며, 미녹시딜과 PD98059 병행 처리군은 미녹시딜 처리군 109.08%보다 낮은 92.91%로, 여정실 H₂O 분획물 10, 25 μ g/ml과 PD98059 병행 처리군은 각각 109.3%에서 92.47%, 108.75%에서 96.23%로 세포증식이 억제되었다(Fig. 5A). LY294002 단일 처리군은 대조군에 비해 81.59%로 세포증식이 억제되었으며, 미녹시딜과 LY294002 병행 처리군은 103.08%에서 76.9%로, 여정실 H₂O 분획물 10, 25 μ g/ml과 LY294002 병행 처리군은 각각 115.98%에서 76.26%, 112.78%에서 89.04%로 세포증식이 유의성 있게 억제되었다(Fig. 5B).

이상의 연구결과를 종합해보면 미녹시딜과 여정실 H₂O 분획물은 섬유아세포의 세포증식을 유도하고, ERK와 Akt의 인산화를 유도하였다. 이러한 효과는 ERK와 Akt 경로를 억제하는 PD98059와 LY294002에 의해 인산화가 억제되고 세포증식 또한 감소되었다. 따라서 미녹시딜과 여정실 H₂O 분획물의 세포증식 효과는 ERK와 Akt 경로를 통해 나타나는 것으로 사료된다.



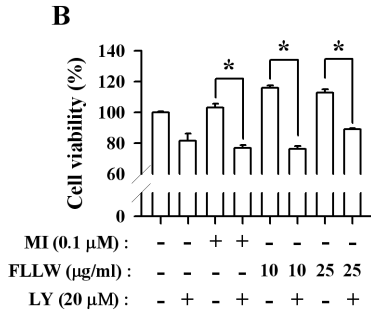


Fig. 5. Effect of PD98059 and LY294002 on FLLW- or MI-induced cell proliferation in HDFn cells.

Cells were pretreated in the absence or presence of 20 μM of MEK/ERK inhibitor PD98059 or PI3K/Akt inhibitor LY294002 for 1h and incubated with 10 and 25 μg/ml of FLLW or 0.1 μM of MI for 30 min. The results are expressed as a percentage of the control in three replicate cultures. Experiments were repeated in triplicate and the results were expressed as the mean ± SD. **p* < 0.05.

IV. 결 론

본 연구에서는 여정실 H₂O 분획물과 미녹시딜을 인체 진피 섬유아세포에 처리하였을 때 세포증식에 미치는 영향과 ERK 및 Akt의 인산화에 미치는 영향을 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 여정실 H₂O 분획물과 미녹시딜은 세포증식을 촉진하였고, 여정실의 경우 3일 배양군 10 μg/ml에서 124.2±4.18%로 대조군에 비해 약 24% 증가시켰다.
2. ERK 1/2 인산화를 조사한 결과 여정실 H₂O 분획물 10 μg/ml 처리 군은 대조군에 비하여 2.65배 증가되었고, 25 μg/ml 처리 군은 2.45배 증가되었다. 미녹시딜 0.1 μM의 경우 2.4배 증가되었다.
3. Akt 인산화를 조사한 결과 여정실 H₂O 분획물 10, 25 μg/ml의 경우 대조군에 비하여 2.29, 2.28배 증가되었고, 미녹시딜 0.1 μM 처리 군의 경우 약 2.73배 증가되었다.
4. PD98059와 LY294002는 여정실과 미녹시딜에 의한 ERK와 Akt의 인산화를 차단하였고, 세포증

식 또한 억제하였다.

이상의 연구결과로 미녹시딜과 여정실 H₂O 분획물은 섬유아세포의 증식을 촉진하였으며, 이러한 결과는 ERK와 Akt 신호전달 경로가 관여하고 있는 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 정부의 재원으로 대한화장품산업연구원 글로벌코스메틱사업단의 지원을 받아 수행된 연구임.

참고문헌

1. Kim WS, Park BS, Park SH, Kim HK, Sung JH. Antiwrinkle effect of adipose-derived stem cell: activation of dermal fibroblast by secretory factors. *J Dermatol Sci.* 2009 ; 53(2) : 96-102.
2. Kim WS, Park BS, Sung JH, Yang JM, Park SB, Kwak SJ, Park JS. Wound healing effect of adipose-derived stem cells: a critical role of secretory factors on human dermal fibroblasts. *J Dermatol Sci.* 2007 ; 48(1) : 15-24.
3. Ghahary A, Ghaffari A. Role of keratinocyte-fibroblast cross-talk in development of hypertrophic scar. *Wound Repair Regen.* 2007 ; 15 : 46-53.
4. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen.* 2008 ; 16(5) : 585-601.
5. Ehrlich HP. Understanding experimental biology of skin equivalent: from laboratory to clinical use in patients with burns and chronic wounds. *Am J Surg.* 2004 ; 187(5) : 29-33.

6. Katsuoka K, Schell H, Hornstein OP, Deinlein E, Wessel B. Comparative morphological and growth kinetics studies of human hair bulb papilla cells and root sheath fibroblasts in vitro. *Arch Dermatol Res.* 1986 ; 279 : 20-5.
7. Matsuzaki T, Yoshizato K. Role of hair papilla cells on induction and regeneration processes of hair follicles. *Wound Repair Regen.* 1998 ; 6 : 524-30.
8. Dargie HJ, Dollery CT, Daniel J. Minoxidil in resistant hypertension. *Lancet.* 1977 ; 2 : 515-8.
9. Zappacosta AR. Reversal of baldness in patient receiving minoxidil for hypertension. *N Engl J Med.* 1980 ; 303(25) : 1480-1.
10. Sica DA. Minoxidil an underused vasodilator for resistant or severe hypertension. *J. Clin Hypertes.* Greenwich. 2004 ; 6 : 283-7.
11. 신민교. 임상 본초학. 서울 : 영림사. 1990 : 279.
12. 김대성, 한규수, 전병국, 우원홍, 문연자. 여정자 핵산추출물의 멜라닌합성 억제효과. *동의생리병리학회지.* 2010 ; 24 : 674-80.
13. 이광석, 송봉근, 김형균, 이연정. 여정자가 대식세포 탐식능에 미치는 영향. *대한한의학회지.* 1996 ; 17 : 227-36.
14. Kwon OS, Pyo HK, Oh YJ, Han JH, Lee SR, Chung JH, Eun HC, Kim KH. Promotive effect of minoxidil combined with all-trans retinoic acid (tretinoin) on human hair growth in vitro. *J Korean Med Sci.* 2007 ; 22(2) :283-9.
15. Cowley S, Paaterson H, Kemp P, Marshall CJ. Activation of MAP kinase kinase is necessary and sufficient for PC12 differentiation and for transformation of NIH 3T3 cells. *Cell.* 1994 ; 77 : 841-52.
16. Robinson MJ, Cobb MH, Mitogen-activated protein kinase pathways. *Curr Opin cell Bio.* 1997 ; 19 : 180-6.
17. Waskiewicz AJ, Cooper JA. Mitogen and stress response pathways: MAP kinase cascades and phosphatase regulation in mammals and yeast. *Curr Opin Cell Biol.* 1995 ; 7 : 798-805.
18. Xia Z, Dickens M, Raingeaud J, Davis RJ, Greenberg ME. Opposing effects of ERK and JNK-p38 MAP Kinases on apoptosis. *Science.* 1995 ; 270 : 1326-31.
19. Ahmad S, Sihgh N, Glazer RI. Role of Akt1 in 17 beta- estradiol- and insulin-like growth factor 1(IGF-I)-dependent proliferation and prevention of apoptosis in MCF-7 breast carcinoma cells. *Biochem Pharmacol.* 1999 ; 58 : 425-30.
20. Tang Y, Zhou H, Chen A, Pittman RN, Field J. The Akt proto-oncogene links Ras to Pak and cell survival signals. *J. Biol Chem.* 2000 ; 275 : 9106-9.
21. Downward J. Lipid-regulated kinases: some common themes at last. *Science* 1998 ; 279 : 673-9.
22. 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 : 91-8.
23. Wang K, Jiang YZ, Chen DB, Zheng J. Hypoxia enhances FGF2- and VEGF-stimulated human placental artery endothelial cell proliferation: roles of MEK1/2/ERK1/2 and PI3K/AKT1 pathways. *Placenta.* 2009 ; 30(12) :1045-51.
24. Hayashi H, Tsuchiya Y, Nakayama K, Satoh T, Nishida E. Down-regulation of the PI3-kinase/Akt pathway by ERK MAP kinase in growth factor signaling. *Genes Cells.*

여정실의 섬유아세포 증식 효과

2008 ; 13(9) : 941-7.