

The Antioxidant Activities and Hair-growth Promotion Effects of *Tenebrio molitor* Larvae Extracts (TMEs)

Minhee Baek^{1†}, Minchul Seo^{1†}, Mi-Ae Kim¹, Eun-Young Yun² and Jae-Sam Hwang^{1*}

¹Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju-gun, Jeonbuk 55365, Korea

²Graduate School of Integrated Bioindustry, Sejong University, Seoul 05006, Korea

Received September 12, 2017 / Revised October 21, 2017 / Accepted November 1, 2017

Tenebrio molitor samples were investigated as novel biomaterials and sources of food in several recent studies. However, the insects' effects on hair growth were not sufficiently researched. To develop novel and natural materials for preventing alopecia and promoting hair growth, this study investigated the antioxidant activities and hair-growth promotion effects of TMEs. To determine the antioxidant activities, the TMEs' DPPH radical- and nitrite-scavenging activities were examined. To determine hair-growth promotion effects, proliferations of human dermal papilla cells (DPCs) and the murine fibroblast cell line NIH3T3 were evaluated by using an MTS assay. In addition, estimations were made for cell viabilities against cell death induced by dihydrotestosterone (DHT) in DPCs and inhibitory effects against potassium channel blocking induced by tolbutamide (TBM) in NIH3T3 cells. The DPPH radical scavenging activity was 81.17%, and the nitrite scavenging activity was 43.69%; the activities were similar to the activities of blueberry extracts. Moreover, the TMEs promoted the proliferation of human DPCs and NIH3T3 cells, which were concentrated dependently. The TMEs prevented not only DHT-induced DPC cytotoxicity but also TBM's action as a potassium channel blocker in NIH3T3 cells. The results suggested that TME could be used as a functional therapeutic alopecia reagent, to prevent hair loss and to promote hair growth.

Key words : Antioxidant, dermal papilla cell, hair growth, NIH3T3, *Tenebrio molitor*

서 론

모발은 직사광선, 물리적 마찰과 같은 외부의 자극으로부터 머리를 보호하고 신체의 온도유지에 관여하며 개성이 중요시 되는 현대에는 개개인의 특징을 보여줄 수 있는 역할을 하고 있다[16, 20]. 모발의 성장은 모낭으로부터 시작되어 복잡적, 주기적으로 조절되는 과정으로 3개의 구간을 반복하게 된다. 전체 모발의 80-90% 정도의 모낭이 성장하는 성장기(anagen), 세포사멸(apoptosis)에 의해 모낭의 성장이 정지되고 모근이 위축되는 퇴행기(catagen), 모근이 완전히 각화되어 곧봉모가 되는 휴지기(telogen) 등의 단계에 따라 성장과 탈모를 거듭한다[34]. 탈모는 모발성장주기 중 휴지기가 길어지거나 휴지기에 있는 모낭의 수가 증가하여 모발 탈락이 과도하게 일어나는 것을 뜻하며, 스트레스 과다, 영양결핍, 국소혈류 장애, 남

성호르몬의 관여, 유전적 요인 등 다양한 이유로 나타난다. 최근에는 스트레스 증가와 식생활 변화 등으로 탈모 인구가 크게 증가함에 따라 탈모 예방과 발모 촉진 등에 대한 관심이 증가하고 있다[14, 23]. 안드로젠성 탈모(androgenic alopecia, AGA)는 가장 흔한 유형의 탈모로 남성형 탈모로 알려져 있으며, 모낭주기의 성장단계가 반복적으로 조기 종료되어 발생한다[26]. 현재 미국 FDA (Food and Drug Administration)로부터 승인 받은 탈모치료제는 minoxidil과 finasteride가 있으나 finasteride의 성기능 저하 및 기형아 출산 부작용, minoxidil의 알레르기성 피부염, 가려움증 및 사용 중단 시 탈모가 재발하는 등의 부작용이 발생하는 것으로 알려져 있어 탈모 치료제로서의 단점이 있다[11, 24]. 따라서 이러한 단점을 보완하여 보다 안전하고 모발 손실 예방 및 모발 성장 강화 효과를 가진 새로운 치료제의 개발이 필요하다[31].

현재 곤충은 130만 종 이상이 존재해 지구상 최다종인 것으로 알려져 있으나 그에 비해 곤충을 이용한 소재 개발은 미비한 실정이다. 과거로부터 동의보감, 본초강목을 통해 다양한 효능이 보고되고 있으며 극한 외부 환경조건 하에서 살아가는 곤충의 특성 상 체내에 탁월한 기능성을 가진 2차 대사산물을 함유하고 있을 것으로 추정되고 있다[19]. 뿐만 아니라 미래 인구 증가에 따른 식량 부족에 대한 대안으로써 식용곤충이 각광받고 있으며 국내에서도 독성시험, 유해물질 및 영양성분

† Authors contributed equally.

*Corresponding author

Tel : +82-63-238-2974, Fax : +82-63-238-3833

E-mail : hwangjs@korea.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

분석 등을 통해 갈색거저리 유충 등 4종의 식용곤충이 일반식품으로 식품공전에 등록되었다[40].

갈색거저리(*Tenebrio molitor*)는 딱정벌레목 거저리과에 속하는 곤충으로서 전세계에 널리 분포하며 최근 대량사육을 위한 시스템이 체계적으로 구축되어 산업화가 용이한 곤충종 중 하나이다. 갈색거저리 유충은 식품소재로서의 다양한 연구들이 진행되고 있으며[1, 13, 18], 기능성 소재로의 개발을 위한 연구 또한 활발히 진행되고 있다[21, 37, 39]. 그러나 갈색거저리 유충 추출물의 항산화 활성 및 모발의 성장 촉진 효과를 연구한 결과는 보고된 바 없다. 따라서 본 연구는 천연물 소재인 갈색거저리 유충 추출물의 항산화 활성 및 인간 모유두세포, 섬유아세포의 세포 증식 효과를 확인함으로써 현재의 약물 치료법을 대체할 수 있는 모발 성장 및 탈모 방지 기능성 소재 개발을 위한 기초자료로 사용하고자 하였다.

재료 및 방법

갈색거저리 유충 추출물 제조

갈색거저리는 예천군충나라(경북 예천군)로부터 종령 유충을 구입하여 사용하였다. 갈색거저리 유충은 세척 후 멸균(115 °C, 0.9 kgf/cm³, 5 min)[7] 및 동결건조 하였고, 동결건조된 갈색거저리 유충을 분말화 하여 Seo 등[36]의 방법에 따라 추출하였다. 갈색거저리 유충 동결건조 분말을 70% 에탄올과 혼합하여 초음파 처리(250 J, 10 s, twice)한 후 30분간 실온에서 방치하였다. 혼합액의 상등액을 걸러 centrifugal evaporator (CVE-3100, Tokyo, Japan)를 이용하여 완전히 건조한 후 사용 전까지 -20 °C에서 냉동 보관하였다.

DPPH radical 소거능 측정

갈색거저리 유충 추출물의 DPPH radical 소거능은 Tilak 등[38]의 방법을 응용하여 측정하였으며, 시료는 1, 5, 10 mg/ml 농도로 준비하였다. DPPH reagent는 빛을 차단하고 메탄올을 용매로 하여 0.2 mM 농도가 되도록 준비하였다. 시료 100 µl과 0.2 mM DPPH reagent 500 µl을 넣고 20분 동안 빛을 차단한 조건에서 반응시킨 후 microplate reader (DTX-8800, CA, USA)을 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 음성 대조군으로 메탄올을 사용하였고, 양성 대조군으로 블루베리 추출물(10 mg/ml)을 사용하여 동일한 조건으로 실험을 수행하였다. DPPH radical 소거능은 다음과 같은 식을 이용하여 산출하였다.

아질산염 소거능 측정

갈색거저리 유충 추출물의 아질산염 소거능은 Gray & Dugan [10]의 방법에 따라 측정하였다. 1 mM sodium nitrite (NaNO₂) 용액 50 µl에 1, 5, 10 mg/ml 농도의 시료 50 µl를 첨가하고, 여기에 0.1 N HCl 용액을 300 µl 가하여 반응 용액

의 최종부피를 0.4 ml로 하여 37 °C에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응 후 2% acetic acid 용액 2 ml, griess reagent 0.2 ml를 가하여 잘 혼합한 다음, 실온에서 15분 동안 반응시키고 microplate reader (DTX-8800, CA, USA)를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염의 양을 산출하였다. 음성 대조군으로 증류수를 사용하였고, 양성 대조군으로 블루베리 추출물(10 mg/ml)을 사용하여 동일한 조건으로 실험을 수행하였다. 아질산염 소거능은 다음과 같은 식을 이용하여 산출하였다.

세포주

인간 모유두세포(human dermal papilla cells, DPCs)와 배양배지는 PromoCell (Heidelberg, Germany)에서 구입하였으며, DPCs의 배양배지는 Human Follicle Dermal Papilla Cell Medium에 Supplement Mix을 혼합하여 제조하였다. Promo Cell로부터 제공된 매뉴얼에 따라 DPCs의 계대 번외 3~6에서 실험을 진행하였다. 섬유아세포(murine fibroblast cell line)인 NIH3T3 cell는 ATCC (Manassas, VA, USA)에서 구입하였으며 10% FBS (fetal bovine serum) (Hyclone, Logan, UT, USA)와 1× penicillin-streptomycin (Hyclone)이 첨가된 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (Hyclone)을 사용하여 배양하였다. 본 실험에 사용한 모든 세포는 37 °C, 5% CO₂가 유지되는 조건에서 배양하였다.

세포 생존율 측정

갈색거저리 유충 추출물이 DPCs와 NIH3T3의 세포 생존율에 미치는 영향은 Chao 등[5]의 방법을 응용하여 확인하였다. 모유두세포에 대한 갈색거저리 유충 추출물의 세포독성 및 세포증식을 확인하기 위하여 DPCs를 96 well-plate에 5.0×10³ cells/well로 분주하여 약 80%의 confluency에 도달할 때까지 10% FBS가 들어있는 배지에서 약 24시간 동안 배양하였다. 그 후 갈색거저리 유충 추출물 0.1, 0.5, 1, 2 mg/ml의 농도로 처리하여 24시간 및 48시간 동안 추가 배양한 후 MTS (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium) reagent를 사용하여 세포 생존율을 측정하였다. Dihydrotestosterone (DHT)에 의한 세포 사멸에 대한 갈색거저리 추출물의 억제 효과를 확인하기 위해서 96 well-plate에 5.0×10³ cells/well로 분주된 DPCs를 serum-free DMEM을 이용하여 24시간 동안 배양한 뒤 DHT의 최종 농도를 100 µM로 DMEM에 희석하여 분주하였다. 갈색거저리 유충 추출물 0.1, 0.5, 1, 2 mg/ml 농도로 처리하여 48시간 동안 추가 배양한 뒤 MTS assay를 실시하였다.

섬유아세포에 대한 갈색거저리 유충 추출물의 세포독성 및 세포증식을 확인하기 위하여 NIH3T3 cell을 96 well-plate에 5.0×10³ cells/well로 분주하여 약 80%의 confluency에 도달할 때까지 10% FBS가 들어있는 배지에서 약 24시간 동안 배양하

였다. 그 후 0.1, 0.5, 1, 2 mg/ml의 농도로 희석한 갈색거저리 유충 추출물을 처리하여 24시간 및 48시간 동안 추가 배양한 후 MTS assay를 통해 세포생존율을 측정하였다. Tolbutamide (TBM)에 의한 세포사멸 억제 효과를 확인하기 위해서 96 well-plate에 5.0×10^3 cells/well로 분주된 NIH3T3 cell를 24시간 동안 배양한 뒤 2% FBS가 첨가된 DMEM에 TBM의 최종 농도를 1 mM로 희석하여 분주한 뒤 1시간 동안 배양하였다. TBM 전처리 후 갈색거저리 유충 추출물을 0.1, 0.5, 1, 2 mg/ml 농도로 처리하여 48시간 동안 추가 배양한 뒤 MTS assay를 실시하였다.

통계처리

모든 실험 결과는 3회 반복하여 평균과 표준편차(mean ± SD)로 나타냈다. 실험결과의 통계처리는 SPSS 10.0 (IL, USA)를 사용하였으며, 실험군 간의 유의성은 One-Way ANOVA를 통해 검정하였고, $p < 0.05$ 일 때 군 간의 차이가 유의적인 것으로 판단하였다.

결과 및 고찰

DPPH radical 소거능 평가

DPPH assay는 천연소재로부터 항산화 활성을 분석하기 위해 가장 많이 사용되는 방법 중 하나이며[3], 비교적 안정한 free radical로서 황함유 아미노산, 항산화제 및 방향족 아민류 등에 의해 환원되어 탈색되는 원리를 이용하여 DPPH radical 소거능을 측정하게 된다[22]. DPPH radical 소거능 분석의 양성 대조군은 이전 연구에서 DPPH radical 소거능이 이미 확인된 블루베리 추출물(10 mg/ml)을 사용하였으며[25], 블루베리 추출물의 DPPH radical 소거능은 84.59%로 나타났다. 갈색거저리 유충 추출물의 DPPH radical 소거능을 분석한 결과 1 mg/ml에서 17.22%, 5 mg/ml에서 66.79%, 10 mg/ml에서 81.17%의 DPPH radical 소거능을 나타내 농도에 따라 DPPH radical 소거능이 증가하는 것을 확인하였다(Fig. 1). 갈색거저리 유충 추출물은 기존에 높은 항산화능을 가진 것으로 알려진 블루베리 추출물과 유사한 정도의 DPPH radical 소거능을 보이므로 free radical 제거에 의한 높은 항산화 활성 및 노화 억제 효과 등을 기대할 수 있다.

아질산염 소거능 평가

질산염으로부터 환원된 아질산염은 2차 아민류와 반응하여 nitrosamine을 생성하는 것으로 알려져 있으며 nitrosamine은 위장, 식도, 비인두 및 방광암과 같은 장애를 유발할 수 있는 것으로 알려져 있다[2, 6, 35]. 이전의 연구에서 아질산염 소거능은 식품 내의 플라보노이드류, 카페인산과 같은 폴리페놀 함량과 연관이 있어 아질산염 소거능을 통해 항산화 효과 또한 보여줄 수 있다고 보고하였다[8]. 아질산염 소거능 분석의

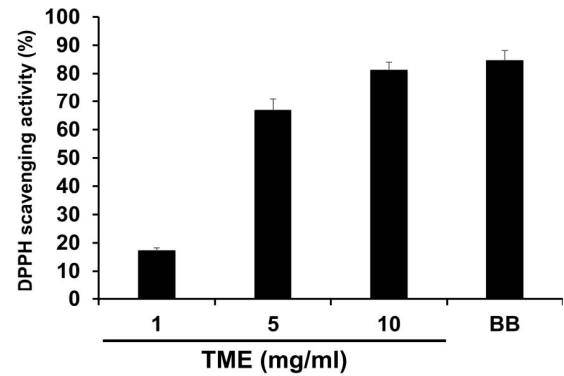


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of *Tenebrio molitor* larvae extract. DPPH radical scavenging activity was determined using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) reagent. Values are the mean ± SD of triplicate. TME, *Tenebrio molitor* larvae extract; BB, Blueberry extract (10 mg/ml).

양성 대조군은 항산화 효능이 있는 것으로 보고된 블루베리 추출물(10 mg/ml)을 사용하였으며[25], 블루베리 추출물의 아질산염 소거능은 40.36%로 나타났다. 갈색거저리 유충 추출물의 아질산염 소거능을 농도별로 분석한 결과, 1 mg/ml에서 6.26%, 5 mg/ml에서 26.16%, 10 mg/ml에서 43.69%의 아질산염 소거능을 나타내 농도에 따라 아질산염 소거능이 증가하는 것을 확인하였다(Fig. 2). 뿐만 아니라 갈색거저리 유충 추출물 10 mg/ml에서는 기존에 높은 항산화능을 가진 것으로 알려진 블루베리 추출물(10 mg/ml)보다 높은 아질산염 소거능을 보이므로 천연 보존제 및 산패방지제 등으로 사용 가능할 것으로 사료된다.

모유두세포 증식 촉진 효과

Epithelial cell, mesenchymal cell 등 소기관들로 구성된 모낭은 모발 성장에 관여한다. 모낭 및 모발의 성장은 복합적이

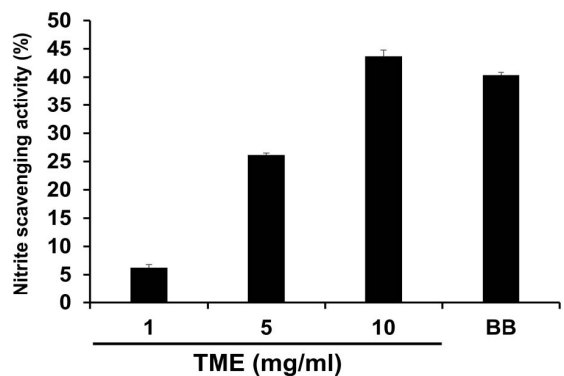


Fig. 2. Nitrite scavenging activity of *Tenebrio molitor* larvae extract. Nitrite scavenging activity was measured using griess reagent. Values are the mean ± SD of triplicate. TME, *Tenebrio molitor* larvae extract; BB, Blueberry extract (10 mg/ml).

고 주기적인 방식이며 anagen, catagen 및 telogen의 3단계를 거쳐 일어난다. Mesenchymal cell의 한 종류인 모유두세포는 상피세포와 상호작용하며 모낭에 영양을 공급하여 모발성장 주기를 재생 및 유지하는 역할을 하므로, 모유두세포의 증식과 사멸은 모발 성장 조절과 모낭의 유지 등에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다[15, 28].

갈색거저리 유충 추출물이 모유두세포의 증식에 미치는 영향을 확인하기 위해서 추출물을 농도별로 24시간 및 48시간 동안 처리한 후 세포증식률을 측정하였다(Fig. 3). 갈색거저리 추출물을 24시간 동안 처리한 경우 131%(0.1 mg/ml)부터 151%까지, 48시간 동안 추출물을 처리한 경우에는 203%(0.1 mg/ml)부터 218%(2 mg/ml)까지 세포 증식효과를 확인할 수 있었다. 이는 모발 성장 효과가 있다고 밝혀진 쥘레 뿌리, 홍삼 및 황칠나무 잎을 이용하여 확인한 모유두세포 증식률과 비교했을 때, 보다 유사하거나 높은 결과였다[12, 27, 30]. 따라서 갈색거저리 유충 추출물은 모유두세포의 증식을 촉진함으로써 모발의 성장에 도움을 줄 수 있을 것으로 예상된다.

모유두세포에서 dihydrotestosterone에 의한 세포사멸 억제 효능

Androgen은 모발의 성장을 조절하며 androgen receptor (AR)와 결합하여 성장기(anagen) 모낭을 감소시키고 퇴행기(catagen)로 유도하여 탈모를 유발하는 것으로 알려져 있다. 그 중 testosterone과 dihydrotestosterone (DHT)이 주요하며, 5 α -reductase 효소에 의하여 testosterone으로부터 환원되어 형성된 DHT은 testosterone에 비해 AR에 결합하는 능력이 약 5배 높은 것으로 확인되었다[32, 33]. AR과 결합한 DHT는

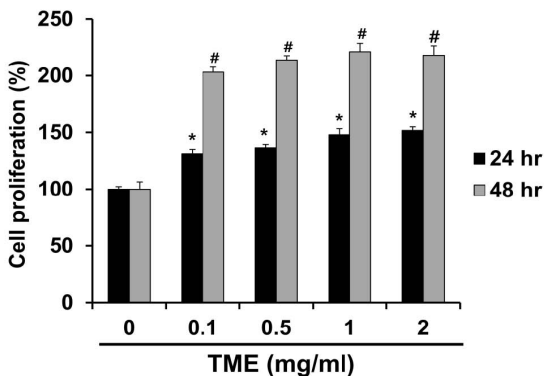


Fig. 3. The effect of *Tenebrio molitor* larvae extract on the cell proliferation of DPCs. DPCs were seeded into 96-well plate (5.0×10^3 cells/well), serum-starved for 24 hr, and then treated with TME for 24 hr and 48 hr. Cell proliferation were determined using 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium (MTS) assay. Values are the mean \pm SD of triplicate. * $p < 0.05$, compared with the control of 24 hr. # $p < 0.05$, compared with the control of 48 hr. TME, *Tenebrio molitor* larvae extract.

모낭 세포의 세포사를 유도하고 최종적으로 모낭이 축소됨에 따라 탈모가 발생하는 것이 남성형 탈모(androgenic alopecia)의 주요한 기전으로 알려져 있다[29]. 본 실험에서는 갈색거저리 유충 추출물이 DHT에 의해 유도되는 모유두세포 사멸에 미치는 영향을 검토하기 위하여 모유두세포에 DHT와 갈색거저리 유충 추출물을 24시간 동안 처리한 후 세포 생존율을 측정하였다(Fig. 4). 그 결과, DHT를 단독으로 처리한 모유두세포는 약 28%의 세포사멸이 유도되었으나, 갈색거저리 유충 추출물을 함께 처리한 경우 0.1 mg/ml 농도에서부터 DHT 단독 처리 군에 비해 세포 생존율이 유의적으로 증가하였으며, 0.5 mg/ml 농도부터는 DHT를 처리하지 않은 정상세포와 같은 정도의 세포 생존율을 나타냈다. 그러므로 갈색거저리 유충 추출물은 DHT에 의한 모유두세포의 세포사를 억제함으로써 탈모를 예방할 수 있을 것으로 사료된다.

섬유아세포 증식 촉진 효과

현재 탈모치료제로 사용되고 있는 minoxidil은 potassium channel opener로서의 역할 및 혈관확장을 통한 영양공급 등을 통해 모발의 성장에 도움을 주는 것으로 알려져 있다[14]. 이전의 연구에서 섬유아세포(fibroblast)인 NIH3T3 cell에 minoxidil을 potassium channel opener로 사용하였고 그에 따른 mitogenic effect의 결과로서 minoxidil의 모발 성장 촉진 효과가 확인되었다[4]. 본 연구에서는 갈색거저리 유충 추출물의 모발 성장 촉진 효과를 확인하기 위하여 추출물을 농도별로 24시간 및 48시간 동안 처리한 후 NIH3T3 cell의 증식을 확인하였다. 갈색거저리 유충 추출물을 24시간 동안 처리한 경우 110%(0.1 mg/ml)부터 116%(2 mg/ml)까지, 48시간 동안 추출물을 처리한 경우에는 114%(0.1 mg/ml)부터 131%(2

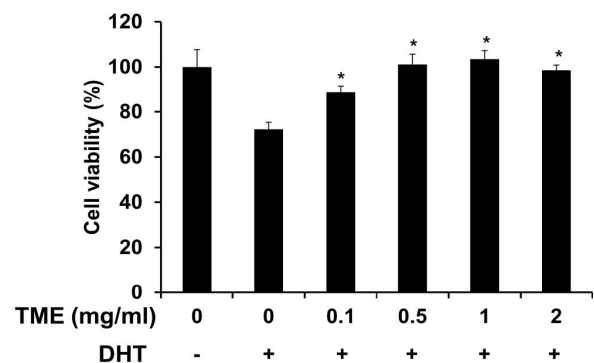


Fig. 4. The inhibitory effect of *Tenebrio molitor* larvae extract on DHT induced cell death. DPCs were seeded into 96-well plate (5.0×10^3 cells/well), serum-starved for 24 hr, and then treated with 100 μ M DHT (dihydrotestosterone) and TME for 48 hr. Cell viabilities were determined using 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium (MTS) assay. Values are the mean \pm SD of triplicate. * $p < 0.05$, compared with the DHT only. TME, *Tenebrio molitor* larvae extract.

mg/ml)까지에서는 세포 증식 효능을 확인할 수 있었다(Fig. 5). 감태[17] 및 검은콩 추출물[14]을 이용하여 NIH3T3 cell의 세포 증식 효과를 확인하고 모발 성장 촉진에 효과가 있음을 밝힌 것과 같이 갈색거저리 유충 추출물 또한 모발의 성장을 촉진하는 효과가 있을 것으로 사료된다.

섬유아세포에 대한 potassium channel opening 효과 확인

갈색거저리 유충 추출물에 의한 NIH3T3 cell의 세포증식

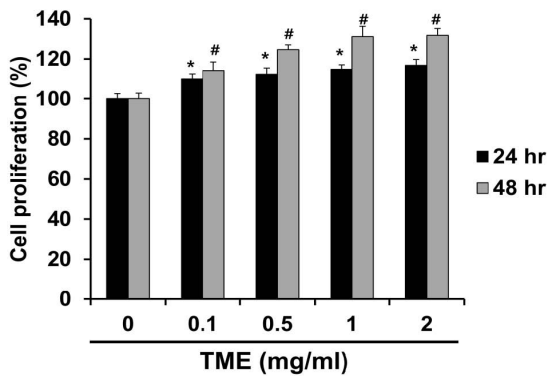


Fig. 5. The effect of *Tenebrio molitor* larvae extract on the NIH3T3 cells proliferation. NIH3T3 cells were seeded into 96-well plate (5.0×10^3 cells/well), and then treated with TME for 24 hr and 48 hr. Cell proliferation were determined using 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium (MTS) assay. Values are the mean \pm SD of triplicate. * $p < 0.05$, compared with the control of 24 hr. # $p < 0.05$, compared with the control of 48 hr. TME, *Tenebrio molitor* larvae extract.

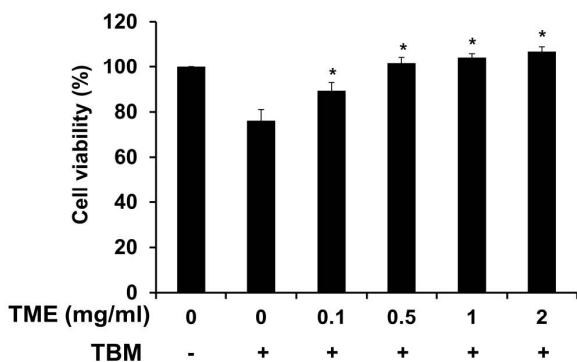


Fig. 6. The inhibitory effect of *Tenebrio molitor* larvae extract on TBM induced potassium channel blocking. NIH3T3 cells were seeded into 96-well plate (5.0×10^3 cells/well), and then treated with 1 mM TBM (tolbutamide) and TME for 48 hr. Cell viabilities were determined using 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium (MTS) assay. Values are the mean \pm SD of triplicate. * $p < 0.05$, compared with the with the TBM only. TME, *Tenebrio molitor* larvae extract.

촉진 효과가 minoxidil과 같이 potassium channel opener로서의 역할에 의한 결과인지 확인하기 위하여 ATP-sensitive potassium channel의 blocker로 알려져 있는 tolbutamide (TBM)를 이용하여 실험을 진행하였다[9]. NIH3T3 cell에 1 mM의 TBM을 48시간 동안 처리한 결과 세포 생존율이 24% 감소하였다. 반면에 1 mM의 TBM과 갈색거저리 유충 추출물을 48시간 동안 함께 처리한 군에서는 TBM에 의한 세포사멸이 억제됨을 확인할 수 있었다. 0.1 mg/ml 농도의 추출물 처리군에서는 TBM 처리군에 비해 세포 생존율이 13% 증가하였으며 2 mg/ml 농도 처리군에서는 정상군과 유사한 수준으로 세포 생존율이 회복되었다(Fig. 6). 이를 통해 갈색거저리 유충 추출물이 potassium channel blocker인 TBM의 활성을 억제하고 potassium channel opener으로써 역할을 함으로써 모발 성장 및 탈모 예방에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 어젠다 사업(과제 번호: PJ01099302)의 지원에 의해 이루어졌으며, 이에 감사 드립니다.

References

- Baek, M., Yoon, Y. I., Kim, M. A., Hwang, J. S., Goo, T. W. and Yun, E. Y. 2015. Physical and sensory evaluation of *Tenebrio molitor* larvae cooked by various cooking methods. *Kor. J. Food Cook. Sci.* **31**, 534-543.
- Bastide, N. M., Pierre, F. H. and Corpet, D. E. 2011. Heme iron from meat and risk of colorectal cancer: a meta-analysis and a review of the mechanisms involved. *Cancer Prev. Res.* **4**, 177-184.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci. Technol.* **28**, 25-30.
- Buhl, A. E., Waldon, D. J., Conrad, S. J., Mulholland, M. J., Shull, K. L., Kubicek, M. F., Johnson, G. A., Brunden, M. N., Stefanski, K. J. and Stehle, R. G. 1992. Potassium channel conductance: a mechanism affecting hair growth both *in vitro* and *in vivo*. *J. Invest. Dermatol.* **98**, 315-319.
- Chao, D., Bahl, P., Houlbrook, S., Hoy, L., Harris, A. and Austyn, J. M. 1999. Human cultured dendritic cells show differential sensitivity to chemotherapy agents as assessed by the MTS assay. *Br. J. Cancer* **81**, 1280-1284.
- Choi, S. Y., Chung, M. J., Lee, S. J., Jung, H. S. and Sung, N. J. 2007. N-nitrosamine inhibition by strawberry, garlic, kale, and the effects of nitrite-scavenging and N-nitrosamine formation by functional compounds in strawberry and garlic. *Food Control* **18**, 485-491.
- Chung, M. Y., Kwon, E. Y., Hwang, J. S., Goo, T. W. and Yun, E. Y. 2013. Pre-treatment conditions on the powder of *Tenebrio molitor* for using as a novel food ingredient. *J. Seric. Entomol. Sci.* **51**, 9-14.
- Cotelle, P. and Vezin, H. 2011. Reaction of caffeic acid and

- derivatives with acidic nitrite. *Tetrahedron Lett.* **42**, 3303-3305.
9. Deborah, A. S., Ian, F., Darren, M. T., Michael, P. P., Gillian, E. W. and Terence, K. 1996. In the absence of streptomycin, minoxidil potentiates the mitogenic effects of fetal calf serum, insulin-like growth factor 1, and platelet-derived growth factor on NIH3T3 fibroblasts in a K⁺ channel-dependent fashion. *J. Invest. Dermatol.* **107**, 229-234.
 10. Gray, J. I. and Dugan, L. R. J. 1975. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food systems. *J. Food Sci.* **40**, 981-984.
 11. Hagemann, T., Schlutter-Bohmer, B., Allam, J. P., Bieber, T. and Novak, N. 2005. Positive lymphocyte transformation test in a patient with allergic contact dermatitis of the scalp after short-term use of topical minoxidil solution. *Contact Dermatitis* **53**, 53-55.
 12. Hwang, H. S., Hwang, T. H., Pyo, A. H. and Ju, E. H. 2017. Anti-oxidant efficacy and effects on expression of growth factors in human hair follicle dermal papilla cells of *Rosa multiflora* root extracts. *Asian J. Beauty Cosmetol.* **15**, 146-158.
 13. Hwang, S. Y., Bae, G. and Choi, S. K. 2015. Preferences and purchase intention of *Tenebrio molitor* (Mealworm) according to cooking method. *Kor. J. Culin. Res.* **21**, 100-115.
 14. Jeon, H. Y., Kim, S. H., Kim, C. W., Shin, H. J., Seo, D. B. and Lee, S. J. 2011. Hair growth promoting effect of black soybean extract *in vitro* and *in vivo*. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **43**, 747-753.
 15. Jo, S. J., Choi, S. J., Yoon, S. Y., Lee, J. Y., Park, W. S., Park, P. J., Kim, K. H., Eun, H. C. and Kwon, O. 2013. Valproic acid promotes human hair growth in *in vitro* culture model. *J. Dermatol. Sci.* **72**, 16-24.
 16. Joo, S. S. 2011. *In vitro* and *In vivo* Hair growth promotion effects of *Lactobacillus plantarum*-fermented plant extracts (MBN). *Kor. J. Food Sci. Technol.* **43**, 381-386.
 17. Kang, K. I., Kim, S. C., Kim, M. K., Boo, H. J., Jeon, Y. J., Koh, Y. S., Yoo, E. S., Kang, S. M. and Kang, H. K. 2012. Effect of dieckol, a component of *Ecklonia cava*, on the promotion of hair growth. *Int. J. Mol. Sci.* **13**, 6407-6423.
 18. Kim, S. H., Shon, J. Y., Park, J. S., Kim, J. W., Kang, J. H., Yun, E. Y., Hwang, J. S. and Kim, H. M. 2016. Change in dietary intake and nutritional status using mealworms as hospital meal in postoperative patients. *J. Kor. Diet. Assoc.* **22**, 292-309.
 19. Kim, Y., Han, H. and Park, Y. 2015. The plan for activation of insect industry. *Korea Rural Economic Institute* **R758**, 1-148.
 20. Lee, H. S. and Hwang, S. Y. 2009. Effects of DCS[®] hair tonic on hair growth promotion in an alopecia model of C57BL/6 mice. *Kor. Education J. Aesthet. Soc.* **7**, 131-142.
 21. Lee, J. E., Lee, A. J., Jo, D. E., Cho, J. H., Youn, K., Yun, E. Y., Hwang, J. S., Jun, M. and Kang, B. H. 2015. Cytotoxicity effects of *Tenebrio molitor* larval extracts against hepatocellular carcinoma. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **44**, 200-207.
 22. Lee, S. G., Yu, M. H., Lee, S. P. and Lee, I. S. 2008. Antioxidant activities and induction of apoptosis by methanol extracts from avocado. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **37**, 269-275.
 23. Liu, J., Kurashiki, K., Shimizu, K. and Kondo, R. 2006. 5alpha-reductase inhibitory effect of triterpenoids isolated from *Ganoderma lucidum*. *Biol. Pharm. Bull.* **29**, 392-395.
 24. McClellan, K. J. and Markham, A. 1999. Finasteride: A review of its use in male pattern hair loss. *Drugs* **57**, 111-126.
 25. Moon, H. K., Lee, S. W. and Kim, J. K. 2013. Physicochemical and quality characteristics of the Korean and American blueberries. *Kor. J. Food Preserv.* **20**, 524-531.
 26. Morgan, M. B. and Rose, P. 2003. An investigation of apoptosis in androgenetic alopecia. *Ann. Clin. Lab. Sci.* **33**, 107-112.
 27. Park, G. H., Park, K. Y., Cho, H. I., Lee, S. M., Han, J. S., Won, C. H., Chang, S. E., Lee, M. W., Choi, J. H., Moon, K. C., Shin, H., Kang, Y. J. and Lee, D. H. 2015. Red ginseng extract promotes the hair growth in cultured human hair follicles. *J. Med. Food* **18**, 354-362.
 28. Park, S. A., Ko, K. S., In, M. H., Mun, Y. J. and Woo, W. H. 2017. Effect of *Puerariae radix* ethanol extract on the proliferation of human dermal papilla cells. *J. Physiol. Pathol. Kor. Med.* **31**, 167-172.
 29. Park, W. S., Sung, D. S., Kim, D. K., Cho, W. H., Lee, H. K., Lee, C. H., Park, S. K. and Sim, Y. C. 2004. The effect of hair essence (HHRHG0202-80) containing five herbal extracts on hair growth and the prevention of alopecia *in vitro* & *in vivo*. *J. Kor. Orient. Med.* **24**, 152-160.
 30. Park, Y. M. and Han, J. S. 2016. A study on the utilization of *Dendropanax morbifera* Lev. leaf extract for material of functional cosmetics and hair growth products. *Asian J. Beauty Cosmetol.* **14**, 277-288.
 31. Rastegar, H., Ahmadi Ashtiani, H., Aghaei, M., Ehsani, A. and Barikbin, B. 2013. Combination of herbal extracts and platelet-rich plasma induced dermal papilla cell proliferation: involvement of ERK and Akt pathways. *J. Cosmet. Dermatol.* **12**, 116-122.
 32. Rastegar, H., Ashtiani, H. A., Aghaei, M., Barikbin, B. and Ehsani, A. 2015. Herbal extracts induce dermal papilla cell proliferation of human hair follicles. *Ann. Dermatol.* **27**, 667-675.
 33. Roh, S. S., Kim, C. D., Lee, M. H., Hwang, S. L., Rang, M. J. and Yoon, Y. K. 2002. The hair growth promoting effect of *Sophora flavescens* extract and its molecular regulation. *J. Dermatol. Sci.* **30**, 43-49.
 34. Schneider, M. R., Schmidt-Ullrich, R. and Paus, R. 2009. The hair follicle as a dynamic miniorgan. *Curr. Biol.* **19**, R132-142.
 35. Sebranek, J. G. and Bacus, J. N. 2007. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? *Meat Sci.* **77**, 136-147.
 36. Seo, M., Goo, T. W., Chung, M. Y., Baek, M., Hwang, J. S., Kim, M. A. and Yun, E. Y. 2017. *Tenebrio molitor* larvae inhibit adipogenesis through AMPK and MAPKs signaling in 3T3-L1 adipocytes and obesity in high-fat diet-induced obese mice. *Int. J. Mol. Sci.* **18**, 518.
 37. Seo, M., Kim, J., Moon, S. S., Hwang, J. S. and Kim, M. A. 2017. Intraventricular administration of *Tenebrio molitor* larvae extract regulates food intake and body weight in mice with high-fat diet-induced obesity. *Nutr. Res.* **44**, 18-26.

38. Tilak, J. C., Banerjee, M., Mehan, H. and Devasagayam, T. P. A. 2004. Antioxidant availability of tumeric in relation to its medicinal and culinary uses. *Phytother. Res.* **18**, 798-804.
39. Youn, K., Yun, E. Y., Lee, J., Kim, J. Y., Hwang, J. S., Jeong, W. S. and Jun, M. 2014. Oleic acid and linoleic acid from *Tenebrio molitor* larvae inhibit BACE1 activity *in vitro*: Molecular docking studies. *J. Med. Food* **17**, 284-289.
40. Yun, E. Y. and Hwang, J. S. 2016. Status and prospect for development of insect foods. *Food Sci. Ind.* **49**, 31-39.

초록 : 갈색거저리 유충 추출물의 항산화 활성 및 모발 성장 촉진 효과

백민희^{1*} · 서민철^{1*} · 김미애¹ · 윤은영² · 황재삼^{1*}

(¹농촌진흥청 국립농업과학원 농업생물부, ²세종대학교 대학원 바이오산업융합학과)

최근 들어 곤충을 식품 및 바이오 소재로 이용한 연구가 활발히 진행되고 있다. 그러나 곤충을 이용한 모발 성장 효과에 대한 연구는 아직 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 탈모 예방 및 모발 성장 효과를 가진 새로운 천연물 소재 개발을 위해 갈색거저리 유충 추출물의 항산화 활성 및 모발 성장 촉진 효과를 연구하였다. 갈색거저리 유충 추출물의 항산화 활성 평가를 위해서 DPPH 라디칼 및 아질산염 소거능을 측정하였다. 모발 성장 촉진 효과를 측정하기 위해서는 인간 모유두세포(human dermal papilla cell)와 섬유아세포(fibroblast, NIH3T3 cell)를 이용하였으며 MTS assay를 통해 세포생존율 및 세포증식률을 측정하였다. 모유두세포에서 dihydrotestosterone (DHT)에 의한 세포사 억제 효과를 확인하였으며, 섬유아세포에서는 tolbutamide (TBM)의 potassium channel blocker 역할에 의한 세포사 억제 효과를 확인하였다. DPPH radical 및 아질산염 소거능 측정 결과 갈색거저리 유충 추출물은 항산화 역할이 뛰어난 것으로 보고된 블루베리와 유사하거나 높은 정도의 항산화능을 가지는 것으로 확인되었다. *In vitro* 상에서 갈색거저리 유충 추출물을 48시간 동안 처리한 경우, 모유두세포와 섬유아세포의 세포증식을 218% 및 116%까지 증가시켰다. 또한, 모유두세포에서 DHT 처리에 의한 세포사가 갈색거저리 유충 추출물에 의해 억제되는 것을 확인하였으며, 섬유아세포에서는 potassium channel blocker인 TBM에 의해 세포생존율이 감소하였으나 갈색거저리 유충 추출물 처리 시 세포생존율이 정상군과 비슷한 정도로 회복되는 것을 확인하였다. 이상의 결과로부터 갈색거저리 유충 추출물을 이용한 모발성장 및 탈모방지 기능성 소재 개발 가능성을 확인하였다.