

## 의이인의 정유 분획물이 모유두 세포의 성장에 미치는 영향

김유진<sup>1#</sup>, 서경혜<sup>2</sup>, 장귀영<sup>2</sup>, 정지욱<sup>3</sup>, 김미려<sup>1\*</sup>

1 : 대구한의대학교 한의과대학 본초약리학교실, 2 : 농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부,  
3 : 대구한의대학교 바이오산업대학 바이오산업융합학부

### Effect of essential oil from Coicis Semen (ECS) on proliferation of human hair dermal papilla cells

Yoo-Jin Kim<sup>1#</sup>, Kyung Hye Seo<sup>2</sup>, Gwi Young Jang<sup>2</sup>, Ji Wook Jung<sup>3</sup>, Mi Ryeo Kim<sup>1\*</sup>

1 : Department of Herbal Pharmacology, College of Korean Medicine, Daegu Haany University, Daegu, Korea  
2 : Development of Herbal Crop Research, National Institute of Horticultural & Herbal Science, RDA, Eumseong,  
Korea  
3 : Division of Bio-technology and Convergence, College of Herbal Bio-Industry, Daegu Haany University,  
Gyeongsan, Korea

#### ABSTRACT

**Objectives** : Currently, the alopecia is one of the most emotionally stressful syndromes in human life, Human hair dermal papilla cells (HDPCs) play an essential role in controlling hair growth and in regulating hair cycle. We performed MTT assay, cell cycle, and western blot to determine the effects of essential oil from Coicis Semen (ECS) on hair growth in HDPCs.

**Methods** : We monitored cell proliferations by MTT assay in HDPCs. After setting up the safe and effective concentration range to be treated ECS, cell cycle analysis was performed using flow cytometry. Also, the protein expression of hair growth-related factors such as insulin like growth factor-1 (IGF-1), Wnt, extracellular signal-regulated kinase (ERK), serine/threonine-specific protein kinase (Akt) in HDPCs was determined by western blot.

**Results** : As results, cell proliferation was increased in ECS group compared to dimethyl sulfoxide (DMSO) group and minoxidil (MNXD) group. Cell number of ECS group was more decrease in sub G1 phase than cell number of DMSO group. Also, cell number of ECS group increased compared to cell number of DMSO group in G1 phase. Protein expression of ECS group was higher than protein expression of DMSO group on related hair growth factors (IGF-1, Wnt, ERK, Akt).

**Conclusion** : As mentioned above, ECS increased cell proliferation and the protein expression of IGF-1, Wnt, ERK, and Akt. These results suggest that ECS could be used as a potential material for the treatment of alopecia by increasing the proliferation of HDPCs.

**Key words** : Essential oil, Coicis Semen, human hair dermal papilla cells (HDPCs), hair growth, minoxidil (MNXD)

\*Corresponding author : Mi Ryeo Kim, Department of Pharmacology, College of Korean Medicine, Daegu Haany University, Daegu, Korea,

· Tel : +82-53-770-2241 · Fax : +82-53-770-2241 · E-mail : mrkim@dhu.ac.kr

#First author : Yoo Jin Kim, Department of Pharmacology, College of Korean Medicine, Daegu Haany University, Daegu, Korea,

· Tel : +82-53-770-2241 · Fax : +82-53-770-2241 · E-mail : puppy3128@naver.com

· Received : 12 April 2021 · Revised : 17 May 2021 · Accepted : 25 May 2021

## I. 서론

신체나 머리의 모발이 가늘어지고 감소하는 증상을 탈모라고 하며, 한의학에서는 혈이 부족하여 모발에 윤기가 없고 혈에 의해 탈모가 발생된다고 하였다. 이에 따라 성장기 모낭의 감소 및 모낭의 축소 등의 현상이 나타난다<sup>1-3)</sup>. 현대 사회에서는 노화로 인한 탈모 뿐 만 아니라 스트레스, 영양 불균형, 불규칙한 생활습관, 호르몬 등으로 인한 탈모 환자가 남성과 여성 모두에서 증가하고 있다<sup>4,5)</sup>. 현재 탈모 치료 약물로 알려진 minoxidil (MNXD)과 finasteride는 Food and Drug Administration (FDA) 승인을 받은 약물이다. Finasteride는 5 $\alpha$ -reductase 활성을 억제시키는 역할로 testosterone으로부터 dihydrotestosterone의 생성을 감소시켜 남성형 탈모 유형에 사용되고 있다. 고혈압 치료제로 개발되었던 MNXD은 혈관 확장을 통해 영양 공급의 증가와 칼륨 채널 개방을 통해 혈액 순환 개선으로 인한 모발 성장이 유도됨으로써 탈모 치료제로 사용되고 있다<sup>6-8)</sup>. 그러나 MNXD과 finasteride 사용 후 성기능 저하, 불임, 기형아 출산, 피부염, 알레르기 등과 같은 부작용으로 인해 천연 재료를 이용한 탈모 치료제 개발이 활발히 연구되고 있다<sup>9,10)</sup>.

모낭은 내·외모근초, 모근, 모유두, 모기질 세포 등을 함유하고 있으며 이 세포들의 상호 관계로 인해 모발의 영양 공급 및 모발 성장에 영향을 미친다<sup>11,12)</sup>. 성장기, 퇴행기, 휴지기를 거쳐 모유두 세포의 조절에 의해 모발의 성장과 탈락이 반복되며 모낭의 감소 및 축소 현상이 증가하면 탈모가 발생한다<sup>2)</sup>. 모유두 세포(human hair dermal papilla cells, HDPCs)는 모세혈관이 분포하고 있으며 모낭의 가장 하단부에 위치하고 모낭의 형성, 모발 성장 주기 조절의 역할을 하여 모발 성장에 중요한 역할을 한다<sup>13,14)</sup>. 따라서 본 실험에서는 모발 성장의 효능을 확인하기 위해 모유두 세포를 사용하였다.

에센셜 오일은 화장품, 식품의 향료, 살충제 등 산업용뿐만 아니라 질병 치료를 위한 의약품이나 미용마사지, 화장품, 방향제 등으로 다양하게 사용되고 있다. 에센셜 오일은 지질함량이 높아 신속한 체내 분포로 약효발현이 빠르며, 부작용이 적다. 그러나 전통 한약재를 사용한 에센셜 오일에 대한 효능 연구가 미비한 실정이다<sup>15,16)</sup>.

의이인(Coicis Semen)은 울무(*Coix lachryma-jobi* var. *mayuen* (Roman.) Stapf)의 종피를 제거한 종자로 벼과(Poaceae)에 속하며 비, 위, 폐경에 작용하고 우리나라나 중국에서 재배된다. 의이인은 다른 곡물에 비해 16.2%의 함량으로 단백질이 풍부하고 탄수화물 함량이 낮아 의약품 및 식품 원료로 많이 사용되고 있다. 의이인은 부종, 신경통, 방광결석 등을 치료하기 위한 약재로 쓰였으며 최근 항비만, 항고지혈증, 항염증, 항산화, 항암 등의 효과를 지닌다고 보고되었다<sup>17-21)</sup>. 특히 의이인은 4.65%로 풍부한 지질함량 및 지방산을 가지며, 정유의 제형으로 피부의 흡수가 빠르고 혈액순환이나 신진대사를 활발하게 한다<sup>22)</sup>.

의이인의 모발 성장 효과를 연구한 Jung<sup>23)</sup>은 의이인의 물 추출물을 사용하였으나 본 저자는 신속한 체내 분포와 약효발현을 기대할 수 있는 의이인의 정유 분획을 사용하여 실험을 진행하였다. 따라서, 본 연구에서는 이전 연구<sup>24,25)</sup>를 토대로 모발성장 촉진제로 알려진 MNXD을 양성대조군으로 사용하여 의이인 에센셜 오일이 모발 성장에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시료 추출

본 실험에서 사용한 약용식물 유래 의이인은 한국생약협회(Seoul, Korea)에서 구입하였다. 정유 추출을 위해 의이인 종자 1 kg과 hexane을 1:10 비율로 혼합하여 실온에서 1일 동안 3번 교반 추출하였다. 추출 후 여과, 농축(BUCHI, Flawil, Switzerland)을 거쳐 용매를 모두 제거한 뒤 57.94 g의 정유를 얻었다. 시료의 수율은 5.79%로  $-80^{\circ}\text{C}$ 에 보관하였다.

### 2. 세포 배양

본 실험에 이용한 HDPCs은 Cellbio (CB-HDP-003, Seoul, Korea)로부터 분양받아 10% fetal bovine serum (FBS, Hyclone, Victoria, Australia)와 1% penicillin (Hyclone, Logan, Utah, USA)을 첨가한 low glucose DMEM (Hyclone, Logan, Utah, USA) 배지를 배양액으로 배양하였다. 세포는 2일 주기로  $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  조건에서 배양하였으며 계대배양 시 trypsin-EDTA (Gibco, Burlington, Canada)을 처리하였다.

### 3. Cell proliferation 분석

Cell proliferation 분석은 MTT assay를 통하여 측정하였다. HDPCs를  $4 \times 10^4$  cells/well이 되게 96 well plate에 200  $\mu\text{l}$ 씩 분주하고 48시간 동안  $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  incubator에서 적응시켰다. 이후 시료를 농도별로 처리하였고 대조군은 시료를 용해한 dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma, st. Louis, MO, USA)를 사용하였으며 양성대조군은 MNXD (Sigma, st. Louis, MO, USA)을 사용하여 48시간 더 배양하였다. MTT 용액(Sigma, st. Louis, MO, USA) 1 mg/ml의 농도로 100  $\mu\text{l}$ 씩 첨가하여 4시간 동안 처리하였다. 상층액을 제거 후 DMSO 200  $\mu\text{l}$ 를 가하여 침전물과 혼합시킨 뒤 ELISA plate reader를 이용하여 570 nm에서 OD값을 측정하였다.

### 4. Cell cycle 분석

Cell cycle 분석을 위해 100 mm dish에서 80% 자란 HDPCs를 60 mm dish에  $2.5 \times 10^6$  cells/well이 되게 3 ml씩 분주하고 48시간 동안  $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  incubator에서 적응시켰다. 이후 시료를 농도별로 처리하였고 대조군은 시료를 용해한 DMSO를 사용하였으며 양성대조군은 MNXD을 사용하여 48시간 더 배양하였다. DPBS (Hyclone, Logan, Utah, USA)로 2번 세척한 후 trypsin-EDTA를 300  $\mu\text{l}$ 씩 첨가하여 cell을 얻었다. 얻은 cell을 1,300 rpm에서 5분간 원심분리 하여 상층액을 제거한 후 70% methanol을 1 ml 씩 첨가하여  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 동안 세포를 고정시켰다. 고정된 세포를 PBS로 2번 세척한 후 PI staining solution kit (BD Biosciences, USA)로 상온에서 30분간 incubation 시킨 후 flow cytometry (Beckman Coulter, USA)로 세포를 분석하였다.

### 5. 단백질 발현 관찰

HPDCs를 lysis buffer (50 mM Tris pH 7.8, 120 mM

NaCl, 2 mM EDTA, 1% Triton X-100)를 첨가하여 13,000 rpm, 4°C에서 30분간 원심분리 후 상층액을 채취하였다. Bradford법을 이용하여 단백질을 정량하였으며, 10% SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis gel로 전기 영동하여 크기별로 단백질을 분리시킨 뒤 PVDF (Polyvinylidene fluoride) microporous membrane (Millipore, Darmstadt, Germany)에 분리된 단백질을 옮겼다. 5% BSA (Bovine Serum Albumin, Bovostar, New Zealand) 용액에 담구어 1시간 동안 blocking 시킨 뒤 1차 항체( $\beta$ -actin antibody (Cell Signaling Technology, Boston, Massachusetts, USA; catalog no.4970), Insulin like growth factor-1 (IGF-1) antibody (Novusbio, USA; catalog no.NBP2-16929), Wnt3a antibody (R&D systems, USA; catalog no.MAB13242-100), serine/threonine-specific protein kinase (Akt) antibody (Cell Signaling Technology; catalog no.2938), phospho-Akt antibody (Cell Signaling Technology; catalog no.4060), extracellular signal-regulated kinase (Erk) antibody (Cell Signaling Technology; catalog no.9102), phospho-Erk antibody (Cell Signaling Technology; catalog no.4376))를 각기 1:1,000~1:250으로 희석시켜 4°C에서 overnight하여 반응시켰다. 반응종료 된 PVDF microporous membrane을 1x PBST로 10분간 3회 세척 후 2차 항체를 1:2,000으로 희석하여 RT에서 1시간 반응시켰다. 1시간 뒤, 1x PBST로 10분간 3회 세척하여 소량의 ECL substrate (GE Healthcare, Buckinghamshire, UK)로 형광 발색하여 Image 분석기 (Uvitec Cambridge, Alliance, England, United Kingdom)를 이용하여 각각의 factor의 발현 정도를 분석하였다.

### 6. 통계분석

실험결과 통계 처리는 SPSS 25 (SPSS Inc., USA)를 사용하여 분석하였다. One-way analysis of variance (ANOVA)를 실시하여, 분석결과에 대한  $p < 0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test 사후 검정을 통하여 각 군 간의 평균값에 대한 유의성을 나타내었다.

## III. 결 과

### 1. HDPCs에서 cell proliferation의 변화

모유두 세포에서의 MTT assay는 cell proliferation 및 cell viability를 나타내며 ECS를 0.1 ~ 200  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리하여 이를 실험하였다. 그 결과, DMSO군 대비 ECS 각각의 농도에서  $123.97 \pm 1.17$ ,  $135.39 \pm 8.28$ ,  $135.12 \pm 1.11$ ,  $137.97 \pm 1.83$ ,  $155.03 \pm 3.02$ ,  $143.58 \pm 14.11$ ,  $144.14 \pm 5.98$ ,  $139.41 \pm 0.03\%$ 의 값을 나타내었다. ECS군의 모든 농도에서 DMSO군에 비해 유의하게 증가하였으며 양성대조군인 MNXD군과도 유의한 차이를 나타내는 것으로 보아 ECS군이 HDPCs를 증식시키는 것을 알 수 있었다(Figure 1).

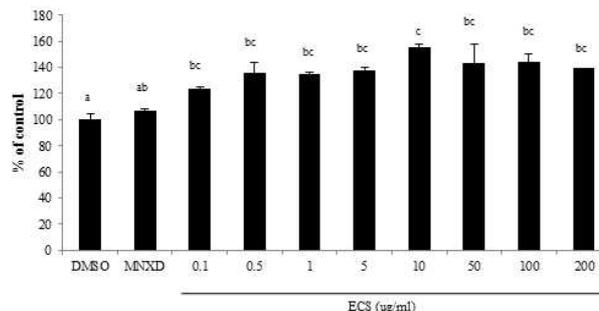


Figure 1. Effects of ECS on cell proliferation in HDPCs. Data are presented as mean  $\pm$  S.E (standard error). Values that do not share common letters (a–bc; DMSO vs ECS (0.1, 0.5, 1, 5, 50, 100, 200  $\mu\text{g/ml}$ ), a–c; DMSO vs ECS (10  $\mu\text{g/ml}$ ) a significant difference in  $p < 0.05$  by Duncan's multi-range test. DMSO ; Dimethyl Sulfoxide-treated group, MNXD ; minoxidil-treated group, ECS ; essential oil from Coicis Semen-treated group.

### 2. HDPCs에서 cell cycle의 변화

HDPCs에서 ECS처리 후 cell cycle의 변화를 관찰하기 위해 flow cytometry를 통하여 확인하였다. 대조군인 DMSO군과 비교하였을 때 ECS 처리군이 세포 사멸을 보여주는 sub G1기와 cell arrest가 발생하는 G2/M기의 세포 수가 감소하는 것을 나타냈으며 1, 2  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서는 양성대조군인 MNXD군보다 더 낮게 나타내었다. 또한, 세포 성장기인 G1기에서는 ECS 처리군이 DMSO군에 비해 모든 농도에서 증가하였으며 MNXD군과 비교하였을 때 1, 2  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 더 증가함을 나타내었다. 따라서, ECS군은 sub G1에서의 세포사 또는 G2/M기의 arrest를 감소시켜 주며 G1기를 증가시킴으로써 HDPCs의 세포 성장을 촉진시키는 것으로 판단된다(Table 1, Figure 2).

Table1. Effects of ECS on cell protection from cell death and cell arrest in HDPCs

Cell cycle phase (%)	DMSO	MNXD	ECS ( $\mu\text{g/ml}$ )		
			0.5	1	2
Sub G1	31.76 $\pm$ 22.00	15.82 $\pm$ 3.00	17.68 $\pm$ 1.55	11.41 $\pm$ 1.46	14.71 $\pm$ 1.58
G1	59.51 $\pm$ 14.27	74.99 $\pm$ 1.70	66.85 $\pm$ 2.82	81.93 $\pm$ 1.50	76.65 $\pm$ 0.85
S	6.69 $\pm$ 0.58 <sup>b</sup>	7.92 $\pm$ 0.34 <sup>b</sup>	14.05 $\pm$ 0.75 <sup>c</sup>	5.51 $\pm$ 0.38 <sup>a</sup>	7.43 $\pm$ 0.43 <sup>b</sup>
G2/M	2.05 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	1.26 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>	1.42 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	1.15 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	1.21 $\pm$ 0.34 <sup>a</sup>

Data are presented as mean  $\pm$  S.E (standard error). Values that do not share common letters (b–c; DMSO, MNXD, ECS (2  $\mu\text{g/ml}$ ) vs ECS (0.5  $\mu\text{g/ml}$ ), a–b; DMSO vs MNXD, ECS (0.5, 1, 2  $\mu\text{g/ml}$ )) a significant difference in  $p < 0.05$  by Duncan's multi-range test. DMSO ; Dimethyl Sulfoxide-treated group, MNXD ; minoxidil-treated group, ECS ; essential oil from Coicis Semen-treated group.

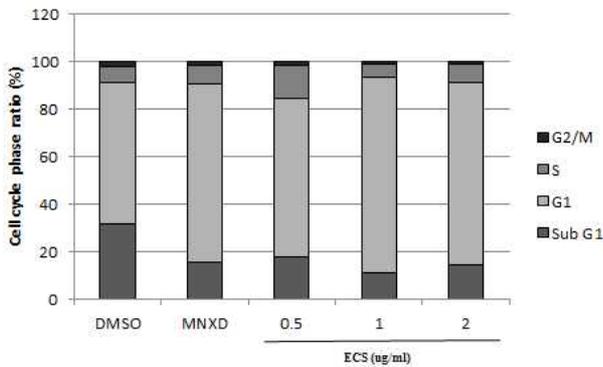


Figure 2. Effects of ECS on cell death and cell cycle arrest protection in HDPCs. DMSO ; Dimethyl Sulfoxide-treated group, MNXD ; minoxidil-treated group, ECS ; essential oil from Coicis Semen-treated group.

### 3. HDPCs에서 모발 성장과 관련된 단백질 발현의 변화

ECS의 모발 성장 효능을 살펴보기 위하여 HDPCs에서 모발 성장 관련 인자인 p-ERK/ERK, p-Akt/Akt, Wnt3a, IGF-1의 단백질 발현을 관찰하였다. 인산화된 ERK의 발현양은 DMSO군은 0.99±0.02 unit으로 나타났으며, MNXD군은

1.67±0.67 unit로 증가하였다. ECS의 발현양은 농도별로 각각 1.21±0.21, 1.64±0.43, 2.06±0.31 unit로 나타나 농도 의존적으로 DMSO군에 비해 증가함을 보였으며 100, 200 µg/ml의 농도에서는 양성대조군인 MNXD군 보다 더 증가하였다. phospho-Akt의 발현을 조사한 결과, DMSO군에서는 5.57±0.00 unit, MNXD군에서는 10.44±1.44, ECS군에서는 각각 13.76±5.29, 40.68±2.65, 32.67±10.21 unit으로 나타났다. 따라서 ECS군이 DMSO군과 MNXD군에 비해 유의하게 증가하는 것으로 확인하였다. Wnt3a의 발현을 측정 한 결과, DMSO 군은 0.31±0.01 unit, MNXD군은 1.39±0.27 unit, ECS군은 농도별로 각각 0.26±0.01, 0.46±0.07, 0.99±0.16 unit으로 확인되었다. 따라서 ECS군이 농도 의존적으로 증가함을 보였으며, 고농도에서는 DMSO군에 비해 유의하게 증가함을 나타냈다. IGF-1의 단백질 발현양은 MNXD군에서 1.53±0.11 unit를 나타냈으며, ECS 군에서는 농도별 각각 1.04±0.04, 1.07±0.02, 1.40±0.08 unit를 나타내 농도 의존적으로 증가함을 나타내었으며, 고농도에서 1.16±0.01 unit인 DMSO군에 비해 유의적으로 단백질 발현이 증가되는 것을 확인하였다(Figure 3). 따라서, ECS 처리군이 모발 성장에 관련이 있는 인자들인 IGF-1, Wnt3a, Akt, ERK의 발현을 증가시키는 것으로 나타냈으므로 모발 성장에 영향을 미칠 것으로 생각된다.

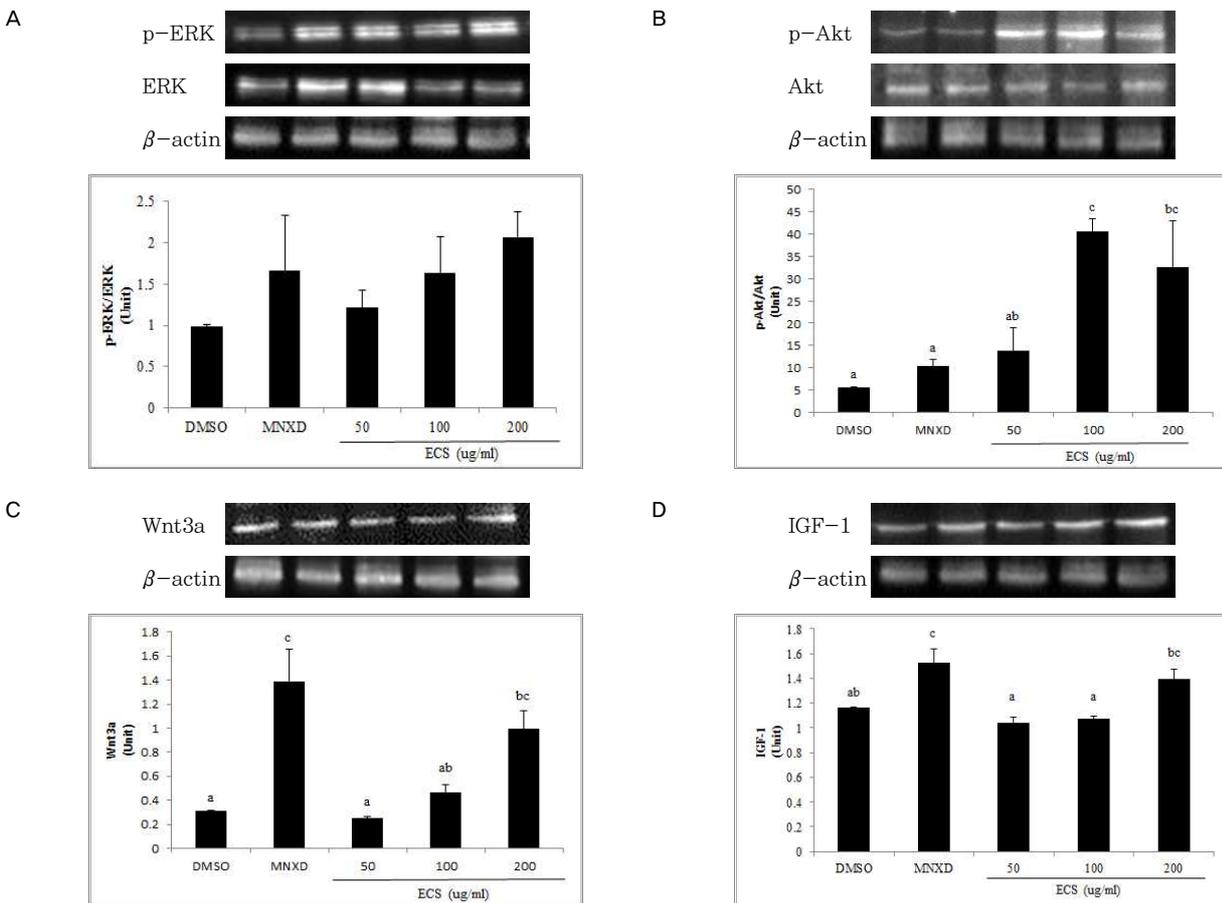


Figure 3. Effect of ECS on hair growth-related (A) p-ERK/ERK, (B) p-Akt/Akt, (C) Wnt3a, (D) IGF-1 protein expression in HDPCs. Data are presented as mean ± S.E (standard error). Values that do not share common letters (B : a-bc; DMSO vs ECS (200 µg/ml), a-c; DMSO vs ECS (200 µg/ml), C : a-bc; DMSO vs ECS (200 µg/ml), a-c; DMSO vs MNXD, D : a-bc; DMSO vs ECS (200 µg/ml), ab-c; DMSO vs MNXD) a significant difference in p<0.05 by Duncan's multi-range test. CON ; Dimethyl Sulfoxide-treated group, MNXD ; minoxidil-treated group, ECS ; essential oil from Coicis Semen-treated group.

## IV. 고 찰

의이인(Coicis Semen)은 울무의 종피를 제거한 종자로 성질이 서늘하고 맛은 담백하며 비위허약, 각기, 수중으로 인한 설사나 식욕부진 등에 쓰인다고 하였다<sup>26)</sup>. 의이인은 coixol, coixenolide, coixans 등을 함유하고 있어 항암, 혈당 강하, 진통작용 등의 생리활성 효능을 가지며<sup>27-29)</sup>, 신경세포 보호 효과, 항산화<sup>30)</sup>, 항비만, 항염증, 항암, 면역기능 증강 등의 다양한 효능이 보고되었다<sup>17-21)</sup>. 또한, 의이인은 비, 위, 폐경에 작용하며 보폐청열(補肺清熱), 청열배농(淸熱排膿), 건비삼습(健脾滲濕), 소종(消腫) 등의 효능<sup>26)</sup>을 가지고 있어 습열, 두피열 등으로 인한 탈모에서 의이인이 모발 성장에 효과가 있을 것으로 생각된다.

에센셜 오일(정유)은 식물에서 압착 또는 증류 등의 방법으로 추출하여 종, 부위, 산지 등에 따라 독특한 향을 가지는 방향성 물질들의 복합체이다<sup>31)</sup>. 항산화, 항균, 혈액 순환 개선, 스트레스 감소 등의 다양한 생리활성과 효능이 보고되어 화장품, 식품, 의약품 등의 다양한 산업 분야에서 활용되어지고 있다<sup>32-36)</sup>. 정유의 추출법은 용매 추출법, 수증기 증류 추출법, 초임계 추출법 등 다양한 방법으로 얻어지며, 본 실험에 사용된 ECS는 hexane을 용매로 한 용매 추출법을 통해 추출하였다.

모발은 신체를 보호하는 일차적인 기능이 있지만 미에 대한 관심이 증가하고 있는 현대 사회에서 각자의 개성을 표현하는 미용적인 수단으로도 중요한 역할을 한다. 그러나 사회적 스트레스, 산화적 스트레스, 영양 불균형 등으로 인해 노화된 모발에서가 아닌 젊은 여성과 남성에게서 탈모 환자가 증가함에 따라 탈모 치료에 대한 관심도 증가하고 있다<sup>37)</sup>. 그러나 대표적으로 알려진 탈모 치료제인 MNXD과 finasteride는 불임, 성기능 장애, 피부 장애, 알레르기 등과 같은 부작용이 우려되어 장기간 사용 시 부작용이 적은 천연물을 사용한 연구가 활발히 진행되고 있다<sup>9,10)</sup>.

모낭은 여러 세포 소기관으로 구성되어 있으며 모발 성장에 중요한 역할을 한다. 그 중 mesenchyma cell에 속하는 HDPCs는 모세혈관을 통해 모낭에 영양을 공급하고 여러 인자들과 상피세포와의 상호작용을 통해 모발의 성장 및 재생을 조절한다. 따라서 HDPCs의 증식 및 사멸은 모발 성장에 밀접한 관련이 있어 최근 HDPCs를 사용한 생물학적 메커니즘에 관한 연구가 증가하고 있다<sup>38-41)</sup>. HDPCs에 ECS를 처리하여 MTT 분석과 cell cycle 분석을 통해 세포의 증식율 및 사멸율을 확인한 결과, DMSO 처리군에 비해 ECS 처리군이 세포의 증식율 및 사멸율을 유의적으로 증가시키는 것으로 나타났다. 또한, cell cycle를 측정하였을 때 ECS군이 DMSO군에 비해 sub G1에서의 세포사 또는 G2/M기의 arrest를 감소시켜 주며 G1기를 증가시킴으로써 HDPCs의 세포 성장을 촉진시키는 것을 확인하였다. 또한, Jung<sup>23)</sup>의 연구와 세포 증식율을 비교하였을 때, 본 연구의 세포 증식율이 30% 더 증가하는 것으로 나타났다. 이는 의이인 정유가 지용성 성분을 함유하고 있어 흡수율이 더 뛰어났을 것으로 생각된다.

모낭의 세포 성장을 촉진시키는 대표적인 인자인 IGF-1은 인슐린과 비슷한 구조로 모발 성장 주기에서 성장기를 늘이고 퇴행기를 단축시켜주는 역할을 한다. 또한 HDPCs의 apoptosis를 방지해주어 모발 성장에 도움이 되는 인자이다

<sup>42,43)</sup>. Wnt/ $\beta$ -catenin pathway는 표피와 진피간의 상호작용에 의해 모낭 형성이 유도되고, 세포 증식 조절 및 모발 성장에 중요한 역할을 한다<sup>44)</sup>. Mitogen-activated protein kinase (MAPK) family인 ERK와 Akt는 IGF-1, Wnt와 같은 성장인자들에 의해 조절되며 세포 증식 및 분화에 다양한 세포 반응에 상호작용 된다<sup>45)</sup>. ERK와 Akt는 활성화가 되면 세포 증식에 깊이 관여하고 있으며 MNXD 처리군에서 ERK가 활성화되어 HDPCs의 증식을 유도한다고 보고된 바 있다<sup>46)</sup>. 따라서, 본 실험에서 HDPCs에 ECS를 처리하여 IGF-1, Wnt, p-ERK/ERK, p-Akt/Akt의 단백질 발현 정도를 western blot을 통해 확인하였다. 그 결과, ECS를 처리한 고농도 군에서 IGF-1과 Wnt의 발현이 대조군인 DMSO군에 비해 유의적으로 증가함을 확인하였다. 또한, p-ERK/ERK의 발현에서 ECS의 처리군이 농도 의존적으로 증가하였으며 고농도인 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서는 양성대조군인 MNXD군 보다 더 높은 발현도를 보였다. p-Akt/Akt의 발현도를 확인한 결과, ECS를 처리한 군이 DMSO군에 비해 유의적으로 증가함을 보였으며 MNXD군과도 비교하였을 때 모든 농도에서 증가함을 나타냈다. 따라서, 모발 성장에 관여하는 인자들에서 ECS를 처리한 군이 높은 증가율을 나타냈으므로 ECS가 모발 성장에 영향을 미치는 것을 확인할 수 있었다.

본 실험의 결과 MTT assay에서 HDPCs의 증식율을 보였으며, cell cycle의 세포 사멸율을 나타내는 sub G1기가 DMSO 처리군에 비해 감소되었으며 세포 성장기인 G1기를 증가시킴으로써 MTT assay의 세포 증식율과 일치하는 결과를 나타냄을 확인하였다. 또한, G2/M기에서의 cell arrest를 감소시킴으로써 세포 성장에 영향을 주었으며 모발 성장에 관여하는 인자들을 증가시켰다. Lee<sup>30)</sup>등에서 보고된 바와 같이 GC/MS 분석에서 caryophyllene, ylangene,  $\gamma$ -terpinene 등을 다량 함유하고 있는 것으로 보아 의이인의 정유 분획물은 다양한 생리활성이 나타날 것으로 생각되어, 추후 HDPCs의 여러 가지 세포 모델에서 의이인 정유 분획물의 모발 성장 및 보호 효능을 확인하여 검증할 예정이다.

## V. 결 론

본 연구에서는 모발 성장 효능을 가지는 새로운 천연소재의 개발을 위하여 의이인의 정유 분획물을 시료로 사용하여 실험한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 모유두 세포에서 세포 증식율을 확인한 결과, 의이인의 정유 분획물을 처리한 실험군은 대조군인 DMSO 처리군에 비하여 모든 농도에서 증가하였다.
2. 모유두 세포의 cell cycle를 확인하여 apoptosis 및 cell proliferation을 확인한 결과 의이인의 정유 분획물을 처리한 군에서 DMSO 군에 비해 sub G1기가 감소하고 G1기가 증가하는 것으로 나타났다.
3. 모유두 세포에 의이인의 정유 분획물을 처리하여 대표적 모발성장인자로 알려진 IGF-1, Wnt, p-ERK/ERK,

p-Akt/Akt의 단백질 발현도를 western blot 실험을 통하여 측정된 결과, 의이인의 정유 분획물을 처리한 군이 DMSO 군에 비해 유의적으로 증가한 것으로 나타났다.

위의 결과로 보아 의이인의 정유 분획물은 모발 성장에 효능이 있는 것으로 판단되며, 탈모 예방 및 양모에 도움이 되는 천연 소재로서 모발 관련 기능성 제품에 활용될 가능성이 있을 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 성과물은 농촌진흥청 연구사업(세부과제번호: PJ01389 501)의 지원에 의해 연구되었으며, 이에 감사드립니다.

## References

- Price VH. Treatment of hair loss. *N Engl J Med*, 1999 ; 341 : 964-73.
- Ellis JA, Sinclair R, Harrap SB. Androgenetic alopecia: pathogenesis and potential for therapy. *Expert Rev Mol Med*, 2002 ; 4 : 1-11.
- Heo J. Dongeuibogam. Seoul: Koryeomoonwhasa, 1997 : 307-10.
- Headington JT. Histological findings in androgenic alopecia treated with topical minoxidil. *Br J Dermatol*, 1982 ; 107(22) : 20-1.
- Do EJ, Hwang MY, Kim SY, Lee JS, Yang DS, Yang CH, Kim MR. The effect of Gyungokgo-gamibang extract on hair growth and protein expression in mice. *Kor J Herbol*, 2011 ; 26(4) : 9-14.
- Buhl AE, Waldon DJ, Conrad SJ, Mulholland MJ, Kubicek MF, Johnson GA, Brunden MN, Stefanski KJ, Stehle RG, Gadwood RC, Kamdar BV, Thomasco LM, Schostarez HJ, Schwartz TM, Diani AR. Potassium channel conductance: a mechanism affecting hair growth both in vitro and in vivo. *J Invest Dermatol*, 1992 ; 98(3) : 315-9.
- 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.
- Meisheri KD, Cipkus LA, Taylor CJ. Mechanism of action of minoxidil sulfate-induced vasodilation: a role for increased K<sup>+</sup> permeability. *J Pharmacol*, 1988 ; 245(3) : 751-60.
- Melcangi RC, Caruso D, Abbiati F, Giatti S, Calabrese D, Piazza F, Cavaletti G. Neuroactive Steroid Levels are Modified in Cerebrospinal Fluid and Plasma of Post-Finasteride Patients Showing Persistent Sexual Side Effects and Anxious/Depressive Symptomatology. *J Sexual Medicine*, 2013 ; 10(10) : 2598-603.
- Hagemann T, Schlutter-Bohmer 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. *Cont Derm*, 2005 ; 53(1) : 85-97.
- Kwack MH, Ahn JS, Kim MK, Kim JC, Sung YK. Preventable effect of L-threonate, an ascorbate metabolite, on androgen-driven balding via repression of dihydrotestosterone induced dickkopf-1 expression in human hair dermal papilla cells. *BMB Reports*, 2010 ; 43(10) : 688-92.
- Hardy MH. The secret life of the hair follicle. *Trends Genet*, 1992 ; 8(2) : 55-61.
- Cotsarelis G. Epithelial stem cells: a folliculocentric view. *J Invest Dermatol*, 2006 ; 126(7) : 1459-68.
- Millar SE. Molecular mechanisms regulating hair follicle development. *J Invest Dermatol*, 2002 ; 118(2) : 216-25.
- Kim MJ, Yang BH and Kim SM. Effect of fragrance of weeds on the behavior of consumers. *Weed & Turfgrass Sci*, 2018 ; 7 : 98-110.
- Hyung SH, Gang SR, Kim YC. Effect of complex oriental medicine extract on hair growth promotion in an alopecia model of C57BL/6 mice. *J Korean Soci Cosmetol*, 2007 ; 3 : 1366-75.
- Cho SI, Kim HW, Kim JS. Effect of Coicis semen extract on streptozotocin-induced diabetic nephropathy rats. *Kor J Herbol*, 2006 ; 21 : 75-81.
- Lee YJ, Sohn YJ, Lee ES, Park JS, Kim SK. Effects of Coicis semen on the hyperlipidemia in rat. *Kor J Herbol*, 2004 ; 19 : 129-36.
- Yun HJ, Lee YJ, Kang MS, Baek JH. Inhibitory effect of Coicis semen extract (CSE) on pro-inflammatory mediators. *J Korean Orient Pediatr*, 2009 ; 23 : 159-71.
- Hung WC, Chang HC. Methanolic extract of adlay seed suppresses COX-2 expression of human lung cancer cells via inhibition of gene transcription. *J Agric Food Chem*, 2003 ; 51 : 7333-7.
- Lu X, Liu W, Wu J, Li M, Wang J, et al. A polysaccharide fraction of adlay seed (*Coixlachryma-jobi* L.) induces apoptosis in human non-small cell lung cancer A549 cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013 ; 430 : 846-51.
- Lee SI. Herbal medicine. *Hong Lim Sa*, 1991 ; 306-8.
- Jung MJ. Effects of Coicis Semen Water Extract on Hair Growth in Alopecia Models. Dongeui University Master's degree, 2017.
- Kim YJ, Lee YJ, Kim MR. Effect of herbal mixture (RAA) on hair growth in C57BL/6 mice. *Kor J*

- Herbol, 2019 ; 34(6) : 139-46.
25. Kim JY, Kim YJ, Kim MJ, Kim MR. Ethanol extract of medicinal herbal mixture accelerates hair growth and melanogenesis in vivo and in vitro. Kor J Herbol, 2018 ; 33(5) : 9-18.
  26. Kim JD. Literature on the quality and effect of Job's Tears (*Coix lachryma-jobi* L. var. *mayuen* S.). Korea Agric Hist Assoc, 2012 ; 11(1) : 89-122.
  27. Ukita T, Tanimura A. Studies on the anti-tumor component in the seeds of *Coix lachrymal-jobi* L. var. *ma-yuen* Stapf, II. Chem Phar Bul, 1961 ; 19 : 47-52.
  28. Numata M, Yamamoto A, Moribayashi A, Yamada H. Antitumor components isolated from the Chinese herbal medicine *Coix lachryma-jobi*. Planta Med, 1994 ; 60 : 356-9.
  29. Takahashi M, Konno C, Hikino H. Isolation and hypoglycemic activity of coixans A, B and C, glycans of *Coix lachryma-jobi* var. *mayuen* seeds. Planta Med, 1986 ; 64-5.
  30. Lee JY, Park JY, Kim DH, Choi SJ, Jang GY, Seo KH. Chemical composition and protective effect of essential oils derived from medicinal plant on PC12 neuro-cells induced by oxidative stress. Korean J Food Nutr, 2020 ; 33(2) : 215-21.
  31. Ha BJ. Aromatherapy. Soomoonsa, Gyeonggi, 2000 ; 11-25.
  32. Ahn KM. The effect of aroma inhalation method using sweet orange essential oil on stress. J Kor Soc Cosm, 2007 ; 13 : 1121-9.
  33. Seo HK, Park KS. A study on the effects of aroma inhalation method using clarysage essential oil on stress in middle-aged women. Kor J Women Health Nurs, 2003 ; 9 : 61-9.
  34. Jeong SH, Park JA. The effect of parallel therapy with abdominal massage using aroma and chiropractic on the pelvis and body fat. Kor J Aesthet Cosmetol, 2012 ; 10 : 381-7.
  35. Lee WJ, Hong SG. A review of aromatherapy on stress management in sportsman. Kor J Aesthet Cosmetol, 2010 ; 8 : 412-28.
  36. Cheong KJ, Yun MY, Chin CH, Song HH, Lee SS, Cheong KJ. A study on the effects of aroma blending oil(carrot seed, geranium, lemon, jojoba) on atopy dermatitis. Kor J Aesthet Cosmetol, 2010 ; 8 : 287-97.
  37. Park JS. Effect of *Origanum vulgare* Extracts on Hair regeneration. Kor J Pharmacogn, 2013 ; 43(3) : 275-80.
  38. Kim JR, Kim MJ, Kim YJ, Yoon YM, An SK. Analysis of the Gens Expression Profiling in Human Dermal Papilla Cells Stimulated by Hydrogen peroxide. J Kor Soc Cosm, 2012 ; 18(1) : 110-9.
  39. Lee YK, Choi JH. Effects of Black Soybean and Germinated Black Soybean Extracts on proliferation of primary human follicle dermal papilla cells. J Kor Soci Well, 2015 ; 10(1) : 293-301.
  40. Shin HS, Park SY, Hwang ES, Lee DG, Mavlonov GT, Yi TH. Ginsenoside F2 Reduces Hair Loss by Controlling Apoptosis through the Sterol Regulatory Element-Binding Protein Cleavage Activating Protein and Transforming Growth Factor- $\beta$  Pathways in a Dihydrotestosterone-Induced Mouse Model. Biol Pharm Bull, 2014 ; 37(5) : 755-63.
  41. Lee JS, Kim YC. Regular Articles : The Promoting Effect of *Angelica gigas* Nakai and *Glycyrrhiza uralensis* Fischet Oriental Medicine Complex Extracts on Hair Growth. J Cosme Sci, 2010 ; 6(1) : 49-56.
  42. 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 : 988-94.
  43. Philpott MP, Green MR. Human hair growth in vitro. J Cell, 1990 ; 97 : 463-71.
  44. Cai Y, Mohseny AB, Karperien M, Hogendoorn PC, Zhou G, Cleton-Jansen AM. Inactive Wnt/ $\beta$ -catenin pathway in conventional high-grade osteosarcoma. J Patholo, 2010 ; 220(1) : 24-33.
  45. Wood LS. New therapeutic strategies for renal cell carcinoma. Urologic Nursing, 2010 ; 30 : 40-53.
  46. 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.