



Effect of Sodium Silicate on Hair Growth in C57BL/6 Mice

Jin-Joo Hue¹, Bum-Ki Jo¹, Bong Su Kang¹, Jun-hyeong Kim¹, Sang Yoon Nam¹, Young Won Yun¹,
Jong Soo Kim¹, Jae-Hwang Jeong², Sang-Hwa Lee³, Jun Bae Ahn⁴ and Beom Jun Lee^{1*}

¹College of Veterinary Medicine and Research Institute of Veterinary Medicine, Chungbuk National University, Cheongju, Korea

²Department of Biotechnology and Biomedicine, Chungbuk Province College, Okcheon, Korea

³Department of Food and Nutrition, Seowon University, Chungju, Korea

⁴Department of Food Service Industry, Seowon University, Chungju, Korea

A promoting effect of Na_2SiO_3 on hair regrowth was investigated using an animal model of C57BL/6 mice. There were four experimental groups including distilled water (DW, a negative control), 5% minoxidil (MXD, a positive control), 50% Na_2SiO_3 , and 100% Na_2SiO_3 solution. The animals were shaved with an electric clipper and then test solutions applied daily with a volume of 0.2 ml per to the dorsal skin of mice for 3 weeks. Body weight and food and water consumption were measured weekly. Photographs of hair regrowth were taken at experimental day 0, 4, 7, 10, 14, 17, and 21. Activities of alkaline phosphatase and γ -glutamyl transpeptidase as well as expressions of growth factors were also determined in the dorsal skin of mice. The animal body weight were not significantly changed among the experimental groups. The MXD and Na_2SiO_3 accelerated hair regrowth compared with DW. The elongation of hair follicles were evidently observed in MXD and 50 or 100% Na_2SiO_3 groups. MXD significantly increased γ -glutamyl transpeptidase at day 14, compared with DW ($P < 0.05$). But the activities of alkaline phosphatase and γ -glutamyl transpeptidase were not significantly increased in Na_2SiO_3 groups, compared with DW. The expression of epidermal growth factor was significantly increased in MXD and Na_2SiO_3 groups, compared with DW ($P < 0.05$). The expression of vascular endothelial growth factor was not significantly changed by MXD or Na_2SiO_3 treatments. The expression of transforming growth factor (TGF)- $\beta 1$ was clearly decreased in MXD and Na_2SiO_3 groups, compared with DW. These results indicate that Na_2SiO_3 may have a hair growth-promoting activity and it can be used for treatment of alopecia or baldness in humans.

Key words: Na_2SiO_3 , hair growth, ALP, γ -GT, EGF, VEGF, minoxidil

(Received 24 February 2010; Revised version received 10 March 2010; Accepted 13 March 2010)

모발은 머리를 보호하며, 외향을 유지하고, 머리의 온도를 유지시키는 등 인체에서 여러 가지 역할을 수행하고 있다. 최근에 중년의 남성뿐만 아니라 젊은 남성들과 여성들에 있어서도 탈모가 증가하는 경향을 보이고 있다. 따라서 젊은 남성과 여성들도 모발을 보호하는 용품에 대해 많은 관심을 많이 가지고 있다. 탈모는 정신적인 스트레스, 영양의 불균형, 환경오염 등에 의하여 발생할 수 있다.

털주머니(hair follicle)의 형성은 주기적으로 순환하며, 성장기(anagen), 복귀기(catagen), 휴지기(telogen), 탈피기(exogen)의 4단계로 나눌 수 있다. 복귀기 동안에는 많은

털주머니가 세포자멸사(apoptosis)의 절차가 진행되고, 휴지기에 들어가면 털주머니의 크기가 줄어들게 된다(Burton and Marshall, 1979; Stenn, 1991). 피부과 외래에서 가장 많이 진단되는 탈모증으로는 원형탈모증, 안드로겐성 탈모증, 휴지기 탈모증 등이 있으며 이중 발생빈도가 가장 높은 것은 안드로겐성 탈모증이다(Kaufman, 1996). 안드로겐성 탈모증은 사춘기 이후의 남성과 여성에서 발생하는 가장 흔한 유형의 탈모증으로서 남성에서의 안드로겐성 탈모증은 남성형 탈모증 또는 대머리라고 부르고 여성에서는 여성형 탈모증으로 알려져 있다(Muller-Rover et al, 2001). 양성 모두에서 탈모는 굵고, 색소침착이 잘된 성모가 모발이 가늘고 짧은 색소침착이 잘 안된 연모로 변형되는 특징을 가지고 있다(Kaufman, 1996; Muller, 2001). 남성형 탈모증에 있어서 가장 중요한 안드로겐은 디하이드로테스토스테론으로 알려져 있으나, 여성형에서는 테스토스테론과 디하이드로테스토스테론 둘 모두가 관

*Corresponding author: Beom Jun Lee, Department of Veterinary Public Health, College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University, 48 Gaeshin-dong, Heungduk-gu, Cheongju 361-763, Korea
Tel: +82-43-261-3357
Fax: +82-43-271-3246
E-mail: beomjun@cnu.ac.kr

여하며, 특히 디하이드로테스토스테론의 대사를 감소가 탈모와 관련된 것으로 나타났다(Hamada and Suzuki, 1996).

현재 모발의 성장을 촉진하는 약물로는 미녹시딜(minoxidil, MXD)과 피나스테라이드(finasteride)가 잘 알려져 있으며 두 개 모두 미국 식품의약품안전청(FDA)의 승인을 받은 제품이다. 미녹시딜은 원래 고혈압치료를 위한 혈관확장제로 개발되었으나 부작용으로 다모증이 보고되면서 발모제로 개발 되었고, 그 발모효과에 대한 작용기전은 현재까지 명확히 밝혀지지 않았지만 혈관확장을 통한 영양공급 증가 및 칼슘 채널 열림(Potassium channel opening) 효과 등이 모발성장을 유도하는 것으로 생각되고 있다. 또한 피나스테라이드는 남성호르몬 대사에 작용하는 효소인 5- α -reductase의 활성을 억제시키는 물질로 알려져 있다(Hattori and Ogawa, 1983; Hamada and Suzuki, 1996).

발모, 양모 및 탈모예방 연구에 이용되는 실험법으로는 실험동물을 이용한 *in vivo* 평가와 털주머니 세포 및 조직배양을 이용한 *in vitro* 평가 등이 주로 이용되고 있다. 그러나 *in vitro*를 이용한 평가방법은 털주머니 조직 내에서의 세포간의 상호작용과 털주머니 조직과 주위를 둘러싼 진피조직과의 상호작용, 그리고 혈액순환이 배제되는 등 모발성장에 직간접적으로 영향을 미칠 수 있는 많은 요소들이 배제되어 있어 한계성을 지니고 있다. 따라서 각종 생화학적 평가를 통해 탐색되는 많은 약물들의 실제 효능을 검증하기 위해서는 아직까지 실험동물을 이용한 효능평가 및 임상 실험이 주로 이용되고 있는 실정이다. 또한 최근에는 생화학적, 분자생물학적 실험방법을 통해 모발 성장과 관련된 각종 성장인자나 유전자의 동정, 작용기전 연구 및 약물탐색연구가 활발히 진행되고 있다(Schwarz, 1978; Meister and Anderson, 1983; Nielsen, 1991; Seaborn and Nielsen, 2002). 그 중 발모와 관련된 생화학적 효소인 γ -glutamyl transpeptidase (γ -GT)는 세포막 결합 효소로 글루타치온(glutathione)대사와 세포막을 통한 아미노산과 펩티드의 흡수, 배출에 관여하며 특히 성장기(anagen)기의 가장 좋은 지표로 보고되었다(Schwarz, 1978). 또한, transforming growth factor β (TGF- β) 성장인자는 세포의 성장, 사멸, 분화와 세포의 형태를 갖추게 하는데 많은 영향을 준다. 이전의 연구에서 인체 털주머니를 기관 배양할 때 TGF- β 1을 배양액에 추가하면 털주머니의 성장을 억제 한다고 보고한 이후로 털주머니의 성장기에서 퇴행기, 휴지기로 가는 털주머니 주기에서 중요한 역할을 하는 성장인자이며, 일반적으로 모발의 성장을 억제하는 작용을 한다고 보고되었다. 또한 털주머니의 수를 감소시킨다는 negative regulator로 알려져 있으며, catagen과 telogen phase를 지날 때 hair regression에 영향을 주어 성장을 지연시킨다.

규소는 사람 체내의 여러 장기에 흔하게 있는 원소로

모발에는 1-10 ppm 정도가 있으며, 모발의 각화 상피와 털겍질(hair cuticle)의 최외곽층인 에피큐티클(epicuticle)층에 축적되어있다(Smith, 1993; Wickett et al., 2007). 성장 중인 동물에서 식이 규소 결핍은 뼈와 결합조직은 현저한 결함과 성장저해를 나타냈다고 한다(Smith, 1993; Wickett et al., 2007). 또한 체내의 결합조직의 형성과 유지에 중요한 기능을 하는 것으로 보이며, 골화과정 뿐 아니라 창상치유과정에서도 작용하는 것으로 보고되었다(Barel et al., 2005; Wickett et al., 2007).

본 실험에 쓰인 규산염인 Sodium Metasilicate (Na_2SiO_3)는 silica (SiO_2)를 금속이온과 결합시킨 무기염형태로 화장품의 부식 방지제로 쓰이며 Silicate가 수중에서 완전 용해된 후에는 무기이온과 이온성 silica로 분해된다. 또한 Na_2SiO_3 는 킬레이트하는 물질로 현재 13-18%의 농도로 사용되며, GRAS (generally regarded as safe) 식품 첨가제이기도 하다(Elmore, 2005).

본 연구에서는 체모가 검은색이고 조직학적이거나 면역학적으로 사람의 조건과 매우 비슷하여 탈모증의 연구에 많이 사용되는 동물로서 C57BL/6 마우스를 이용하여 Na_2SiO_3 의 모발성장효과를 양성대조군인 minoxidil과 비교하여 평가 분석하였다.

재료 및 방법

시험물질 및 시약

서원대학교에서 제공된 시험물질을 증류수군(D.W.) 및 양성대조군인 5% MXD군과 비교하였다. 5% MXD는 한국 충청남도 천안시에 위치한 현대약품에서 구입하여 사용하였다. 시험물질은 Na_2SiO_3 을 DW에 포화시킨 용액으로서 100%원액과 50%희석액을 사용하였다.

실험동물

6주가 지난 수컷 C57BL/6를 구입하여 1주 동안 실험실에 적응 시킨 후, 7주령을 실험에 사용하였다. 동물 사육실은 일정습도($50 \pm 10\%$)와 일정온도($23 \pm 3^\circ\text{C}$)를 유지하였으며 격리용 마우스 케이지에 5마리씩 사육하였다. 사료와 음수는 자유 급여하였다. 군당 각각 18마리로 총 72마리를 실험에 이용하였다. 마우스 케이지는 (주)삼광의 케이지를 이용하였다. 동물실험은 충북대학교 동물실험윤리위원회(IACUC)의 승인을 받아 과학적이고 윤리적으로 수행하였다.

음수, 사료 섭취량 및 체중 측정

체중은 실험이 종료될 때까지 처음 시작한 날로부터 1주일에 1회 측정되었다. 음수 및 사료 섭취량도 발모 시험물질 도포직전부터 측정하여 실험 종료 시까지 일정한 시간(오후 2시)에 측정하였으며 임상증상도 매일 관찰하였다.

탈모처리 및 발모제의 도포 및 관찰

모발의 순환기중 휴지기를 적용하기 위해서 전기면도기를 사용하여 등의 털을 제거하였다. 제거 중 피부에 손상을 가하지 않았으며, 지속적인 관찰결과 염증소견을 나타내지도 않았다. 시료처리는 매일 오후 2시에 1회씩 21일간 실시하였다. 털을 깎은 부위에 일정량(0.2 mL)의 시험물질을 분무한 후 붓을 사용하여 문지르며 고르게 분포시켜주었다. 음성대조군으로서 증류수, 양성대조군으로서 5% 미녹시딜(MXD), 그리고 시험물질을 도포하였다.

육모에 대한 육안적 관찰

실험 시작 후 0, 4, 7, 10, 17, 14, 21일에 털이 자라는 상태를 육안으로 확인하기 위해 에테르로 마취한 후 사진촬영을 실시하였으며, 털이 자란 상태 정도를 육안으로 판단 비교하였다. 사진기는 Nikon사의 D70모델(Tokyo, Japan)을 사용하였다. 각 군의 모발성장 효과는 각각의 동물을 육안적으로 관찰하여 발모 정도에 따라 0-19% (-), 20-39% (\pm), 40-59% (+), 60-79% (++), 80-100% (+++)로 판정하였다.

조직학적 분석

시험21일째에 시료도포부위를 적출한 후 10% 포르말린 완충액을 사용하여 고정하였다. 단계별로 알콜과 자일렌으로 탈수 처리하여 파라핀으로 포매한 후, 마이크로톰(HM-315 model, Microm Co., Germany)을 이용하여 4 μ m의 절편을 제작하여 다시 알코올과 자일렌으로 파라핀을 제거하였다. 헤마톡실린과 에오신으로 염색하여 광학현미경(Olympus, Tokyo, Japan)으로 털주머니 조직의 조직학적 변화를 관찰하였다.

효소활성도 측정

시험21일째에 등쪽 피부를 절개하여 액체질소에 급속 냉동시켰다. 일정무게(1 g)의 피부를 절개하여 4배수의 0.1 M 인산 완충액에 넣고 조직과 완충액을 균질화시켰다. 12,000 rpm에서 20분 동안 원심분리한 후 상등액을 채취하여 효소활성도 측정에 이용하였다. Alkaline phosphatase (ALP)의 활성은 효소 비율 측정(GSCC)법을 그리고 γ -glutamyl transpeptidase (γ -GT)활성은 *p*-nitrophenolphosphate (PNPP)-DEAV법을 사용하여 측정하였다. 측정장비로는 생화학자동분석기인 Hitachi-747을 이용하여 분석하였으며 사용된 시약은 모두 Daichi사의 것을 이용하였으며, 그 외 기타사항은 임상병리시험기준에 준하였다.

성장인자 분석

마우스의 Vesicular epidermal growth factor (VEGF)와 Epidermal growth factor (EGF)에 각각 특화된 항체를 결합한 후 측정하였다. 실험군과 대조군을 각각의 well에

넣고 반응시킨 후 2시간 후에 세척하고 효소결합 다중항체를 각각의 well에 넣었다. 2시간 반응 후 다시 세척한 후 파란색으로 변했을 때 반응정지 물질을 넣고 각각의 well을 측정하였다. VEGF와 EGF 측정은 각각 Mouse VEGF immunoassay kit와 Mouse EGF immunoassay kit (R&D SYSTEMS, USA)를 구입해서 사용하였다. 성장인자 분석은 제조사에서 제공한 시약 사용법에 따라 수행하였다.

TGF- β 1 Western blot analysis

피부조직을 protein prep (iNtRON Biotechnology, Seongnam, Korea) 시약을 넣어 균질화 하여 단백질은 Bradford protein assay (Bradford MM, 1976)로 정량하였다. 30 μ g의 단백질을 loading 한 후, 12% SDS PAGE에 전기영동을 한 후, PVDF membrane (Hoefer Inc., San Francisco, USA)에 단백질을 transfer 하였다. 5% BSA에 blocking하고, TGF- β 1 antibody (1:500, Santa Cruz Biotechnology, Inc., California, USA) 또는 β -Actin (1:2000, Cell Signalling Technology Inc., Boston, USA) 1차 antibody를 3% BSA에 희석하여 4°C에 overnight 하였다. 그 후, 2차 antibody anti-rabbit horseradish peroxidase-conjugated antibody (1:4000, Santa Cruz Biotechnology, Inc., California, USA) 또는 anti-mouse horseradish peroxidase-conjugated antibody (1:4000, Santa Cruz Biotechnology, Inc., California, USA)을 실온 상태에 shaker에서 1시간동안 반응시킨 후, ECL을 사용하여, Western 발현도를 현상하였다.

통계학적 처리

모든 데이터는 평균 \pm 표준오차로 표시하고, 대조군과 실험물질 처리군과의 유의적인 평가는 one-way analysis of variance(ANOVA)로 실시되었으며, Turkey HSD test로 대조군과 투여군에서의 유의성을 $P < 0.05$ level에서 평가하였다.

결 과

체중의 변화 및 음수 사료량의 측정

C57BL/6 마우스의 체중은 시험기간에 따라 서서히 증가하였으며 시험물질투여 군과 대조군의 비교에서 유의적 차이는 보이지 않았다(Figure 1). 사료섭취량 및 음수량의 변화도 시험군간의 차이가 관찰되지 않았다.

양모의 육안 변화

제모 1일후부터 각각의 시료를 제모된 부위에 도포하였다. 모든 시험군에서 약 7일정도 까지 거의 털이 자라지 않았다. 양성대조군인 미녹시딜군은 10일 이후에 음

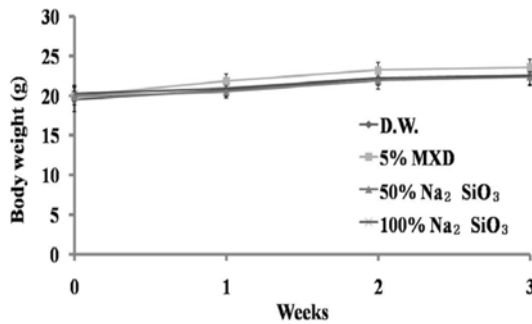


Figure 1. Change in body weight of C57BL/6 mice for 3 weeks. The animals were shaved with electric clipper and the test compounds applied with 0.2 mL per to the dorsal skin of mice for 3 weeks. D.W: distilled water, MXD: 5% minoxidil. Data represent mean \pm SD (n=5).

성대조군과 다르게 체모가 증가한 것을 관찰할 수 있었다(Figure 2). Na₂SiO₃군의 경우도 음성대조군과 비교하여 처치 10일 후부터 등에 털이 자라기 시작하였다. 실험 14일 이후 MXD군은 마우스의 등에 거의 80%정도에서 털이 자라는 것을 관찰 할 수 있었다. Na₂SiO₃군의 경우 시험 14일에 음성대조군보다는 빨리 털이 자랐지만 양성 대조군보다는 느린 육모효과를 보였다(Figure 2). 이러한 육모효과에 대한 점수를 Table 1에 나타내었다.

양모의 조직학적 변화

시험물질이 피부의 털주머니 및 털뿌리(hair root)의 성장에 영향을 미치는 효과를 조사하기 위하여 물질을 도포한 후 부검하여 모발성장 효과를 조직학적으로 관찰하였다. 양성대조군과 시험물질 도포군은 음성대조군인 증류수에 비해 털주머니의 수와 크기가 많고 증가하였다. 염증소견이나 기타 병리학적 소견은 발견되지 않았다(Figure 3). 또한 MXD 및 Na₂SiO₃군에서 털주머니의 모양이 길게 형성되었다(Figure 3).

ALP 효소 활성변화

ALP 효소는 hair growth cycle에서 혈관형성의 지표로서 알려져 있으며, 본 연구에서는 피부에서 이들 효소의 활성을 측정하였다. 시험물질 투여 1-3주 후에 ALP 효소 활성을 측정하여 Figure 4에 나타내었다. ALP 효소활성이 Na₂SiO₃군에서 1-2주 후에 대조군에 비해 약간 증가하였으나 유의적 차이는 관찰되지 않았다(Figure 4). 양성대조군인 MXD군에서도 1-2주 후에는 ALP효소 활성이 증가하였으나 유의적 변화는 나타나지 않았다(Figure 4).

γ -GT 효소활성변화

γ -GT 효소는 모발 성장 주기에서 신생혈관형성의 지표로서 알려져 있으며, 본 연구에서는 마우스 등피부에서 이들 효소의 활성을 측정하였다. 시험물질 투여 1-3주 후

에 γ -GT 효소활성을 측정하여 Figure 5에 나타내었다. γ -GT 효소의 활성은 MXD 처치 2주후에 대조군에 비해 유의적으로 증가하였으며($P<0.05$), 시험물질인 규산염의 처치는 유의적 차이는 없었으나, 2주 후에 약간 증가하는 경향을 보였다(Figure 5).

Epidermal growth factor (EGF) 활성

Epidermal growth factor는 상피의 생성을 유도하는 물질이다. 본 연구 결과를 Figure 6에서 보듯이 대조군에 비해 미녹시딜투여군 및 규산염 투여군에서 유의적 증가를 보였다($P<0.05$).

Vesicular epidermal growth factor (VEGF) 활성

VEGF는 상피에서 혈관의 생성을 유도하는 물질이다. 본 연구에서 미녹시딜 및 규산염 투여군은 음성대조군보다 VEGF의 활성이 증가하였다. 그러나 이러한 변화에 대한 통계적인 유의수준은 관찰되지 않았다(Figure 7).

TGF- β 1 발현

TGF- β 1 발현도를 비교한 결과, 대조군에 비해 양성대조군인 5% MXD와 시험물질인 Na₂SiO₃군의 발현정도가 매우 약한 것을 볼 수가 있었으며, 이 TGF- β 1 발현도는 MXD 양성대조군에 비해 Na₂SiO₃ 시험물질 투여군에서 모발주기를 지나면서, 비슷한 양상을 보이는 것을 확인할 수 있었다(Figure 8).

고 찰

최근 생활습관이나 영양적 균형의 변화에 따른 탈모나 빈모를 겪고 있는 남성과 여성의 수치가 증가하고 있다. 그만큼 탈모를 예방하거나 모발 성장을 증진시키는 새로운 치료법의 개발이 중요하다. 보통 사람의 머리는 대략 100,000개의 털주머니를 갖고며, 각 털주머니는 사람의 생활사에서 평균적으로 약 20개의 털로 성장한다(Rebora, 2004). 평균적인 탈모량은 하루에 100가닥 정도이다. 탈모란 머리카락의 모발의 손실을 말하는 의학적인 정의이고, 탈모로 고통스러워하는 남성과 여성의 수가 점점 증가하는 상황이다. 그러므로, 탈모를 예방하고 모발성장을 증진시키는 새로운 치료법의 개발이 중요하고, 이런 관점에서 대체의학이 주목을 받고 있다.

본 실험에서는, 모발 성장 효능을 가진 제품을 개발하고자 하는 목적으로 C57BL/6 마우스를 이용하여 발모에 효능이 있는지, 수용액 50% 및 100% 두 농도의 시험물질(Na₂SiO₃)을 5% minoxidil의 모발 성장 효과와 비교해 보았다. C57BL/6 마우스는 육모 모델로 체모가 검은색이고 조직학적이거나 면역학적으로 사람의 조건과 매우 비슷하여 탈모증의 연구에 많이 사용되는 동물이다(Muller-



Figure 2. Photograph of hair regrowth in C57BL/6 mice. The animals were shaved with electric clipper and the test compounds applied with 0.2 mL per to the dorsal skin of mice for 3 weeks. The photographs were taken day 0, 4, 7, 10, 14, 17, and 21. DW: distilled water, MXD: 5% minoxidil.

Rover et al, 2001). 생후 7주령의 수컷 C57BL/6 마우스를 사용해, 등 부위를 제모한 후 휴지기 상태를 확인한 후 실험을 시작하였다. 마우스의 등부위에 3주간 시험물질을 도포한 결과, 실험 10일 후에 5% MXD, 50% Na₂SiO₃, 100% Na₂SiO₃ 군에서 대조군인 DW군보다 뚜렷한 모발성장효과를 볼 수 있었다. 실험 2주 이후 양성 대조군은 80%정도의 모발 성장 효과를 볼 수 있었고, Na₂SiO₃군은 대조군보다는 빠르나 양성대조군보다는 느린 효과를 보였다. 본 실험에서 3주 이후에 Na₂SiO₃이 MXD와 유사한 모발성장효과를 보였다. 따라서, Na₂SiO₃

이 모발성장을 촉진시키고, 그 효능이 MXD의 모발 성장 촉진효과와 유사하게 나타나는 것을 알 수 있었다. 실험 과정에서 5% MXD군에서 체중이 약간 증가되는 것으로 나타나나, 유의성은 보이지 않았다.

본 실험에서는 육안적 효과뿐 아니라 조직학적 또는 생화학적 실험을 통해 세부적인 유효성의 결과를 얻고자했다. H&E 염색의 결과, 5% MXD, 50% Na₂SiO₃, 100% Na₂SiO₃ 군에서 음성대조군에 비해 털주머니 수가 증가했고, 털주머니의 깊이 또한 증가했음을 확인할 수 있었다. 이전의 실험에서 MXD가 휴지기상태의 털주머니를 성

Table 1. Comparison of hair regrowth in C57BL/6 mice for 3 weeks

Weeks	Groups			
	D.W.	MXD	50% Na ₂ SiO ₃	100% Na ₂ SiO ₃
1	-	-	-	-
2	-	++	±	+
3	+	+++	+++	+++

The animals were shaved with electric clipper and the test compounds applied with 0.2 mL per to the dorsal skin of mice for 3 weeks. Hair growth was evaluated by the scoring index: 0-19% (-), 20-39% (±), 40-59% (+), 60-79% (++) , 80-100% (+++). D.W: distilled water, MXD: 5% minoxidil.

장기로의 유도를 촉진시키는 효능을 가짐을 확인하였는데, MXD와 더불어 Na₂SiO₃가 휴지기 털주머니를 성장기로의 유도를 촉진시키는 효과를 확인할 수 있었다. 규소(Si)는 사람과 동물의 체내에 흔하게 있는 미량의 원소로, 모발과 발톱 등에도 미량으로 존재하는 원소이다. 또한 체내의 결합조직의 형성과 유지에 중요한 기능을 하는 것으로 보인다(Barel *et al.*, 2005; Wickett *et al.*, 2007). 노화된 피부와 가는 모발을 지닌 생물학적으로 나이든 여성에 colloidal silicic acid를 경구투여와 안면에 국소적 처리 후에 모발과 손톱의 상태와 피부의 두께 등에서 유의적으로 향상이 있음을 알 수 있었고, 진피의 두께가 두꺼워짐을 확인할 수 있었다(Lassus, 1993). 규소의 또 다른 형태인 ch-OSA (Choline-stabilized orthosilicic acid)는

규소의 수용성의 형태인 OSA (orthosilicic acid)에 콜린기를 붙여서 만들어, 생물학적으로 더 안정성이 높은 물질로서 ch-OSA를 여성에 경구투여 했을 때, 20주 후에 피부의 물리적 특성과 모발과 손톱에서 현저한 개선효과를 나타내었다(Barel *et al.*, 2005).

본 실험에서는 성장인자와 효소분석을 통해서도 모발 촉진 효과를 관찰할 수 있었다. ALP 효소활성이 Na₂SiO₃ 군과 MXD군에서 1-2주 후에 대조군에 비해 증가하였다. ALP는 혈관신생과정에 관여하는 효소로 알려져 있으며, anagen기 동안 피부가 두꺼워짐의 결과로 ALP의 증가가 나타난다고 하였다(Hamada and Suzuki, 1996). 이 효소는 진피 유두에 밀집되어 있는 모세혈관으로 영양을 공급해 발모 작용을 원활하게 해주는 것으로 알려져 있으며 모발 재생효과를 보이는 부위에서 현저한 활성증가를 나타냄을 보고되었다(Meister and Anderson, 1983). 피지선 단위(pilosebaceous unit)에서 우세한 ALP활성을 나타내고, 원형탈모에서도 ALP활성의 변화가 나타난다고 하였다(Handjisiki *et al.*, 1994).

본 실험에서 또 다른 효소인 γ -GT 효소의 활성은 MXD 군에서 2주후에 대조군에 비해 유의적으로 증가하였으며, Na₂SiO₃군에서 약간 증가하는 경향을 보였다. γ -GT는 모발성장주기에서 신생혈관형성의 지표로서 알려져 있으며 모발성장 주기 동안에 성장기 동안 높은 활성을 나타내고, 휴지기 동안 크게 감소한다. 피부에서 γ -GT 효소는 털주머니의 외털뿌리(hair root)초와 내털뿌리(hair root)초

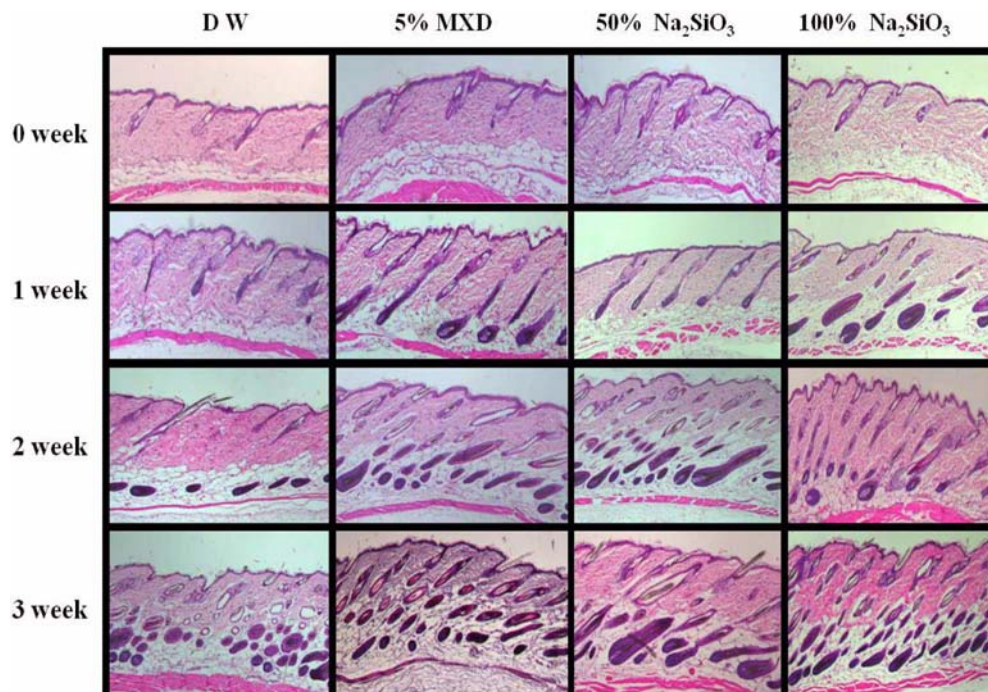


Figure 3. Histological change of hair follicles in the dorsal skin of C57BL/6 mice (H&E, $\times 40$). The animals were shaved with electric clipper and the test compounds applied with 0.2 mL per to the dorsal skin of mice for 3 weeks. D.W: distilled water, MXD: 5% minoxidil.

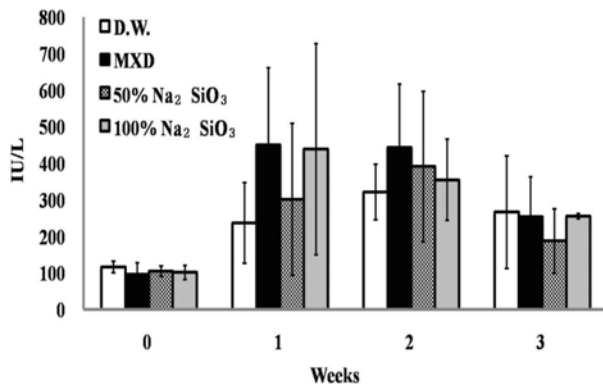


Figure 4. Alkaline phosphatase (ALP) changes in the dorsal tissue of C57BL/6 mice. The animals were shaved with electric clipper and the test compounds applied with 0.2 mL per to the dorsal skin of mice for 3 weeks. D.W.: Distilled water, MXD: Minoxidil. Data represent mean \pm SD (n=5).

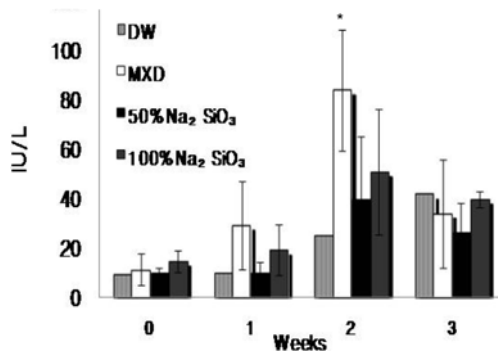


Figure 5. γ -glutamyl transpeptidase (γ -GT) changes in the dorsal tissue of C57BL/6 mice. The animals were shaved with electric clipper and the test compounds applied with 0.2 mL per to the dorsal skin of mice for 3 weeks. DW: Distilled water, MXD: Minoxidil. Data represent mean \pm SD (n=5). *Significantly different from the D.W. group ($P<0.05$).

에서 나타나고 피지선 아래의 털주머니에서 발현이 제한되고, 피지선 위쪽의 털주머니에서는 전혀 나타나지 않는다고 하였다(Kawabe et al., 1994).

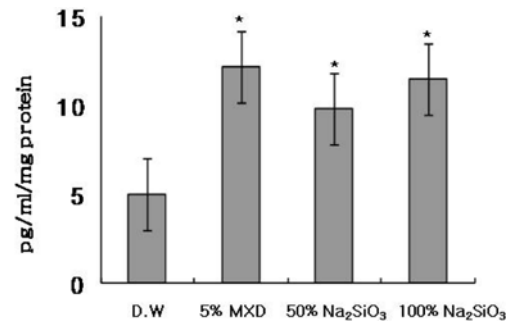


Figure 6. Activities of Endothelial growth factor (EGF) in the dorsal tissue of C57BL/6 mice. The animals were shaved with electric clipper and the test compounds applied with 0.2 mL per to the dorsal skin of mice for 3 weeks. D.W.: Distilled water, MXD: 5% Minoxidil. Data represent mean \pm SD (n=5). *Significantly different from the D.W. group ($P<0.05$).

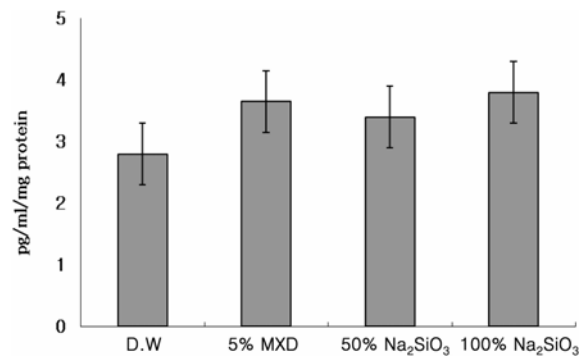


Figure 7. Activities of vascular endothelial growth factor (VEGF) in the dorsal tissue of C57BL/6 mice. The animals were shaved with electric clipper and the test compounds applied with 0.2 mL per to the dorsal skin of mice for 3 weeks. D.W.: Distilled water, MXD: 5% Minoxidil. Data represent mean \pm SD (n=5).

EGF와 VEGF는 성장인자로 시험물질 도포군이 대조군에 비해 높은 측정치를 나타냈다. EGF는 털주머니와 진피에 영향을 미치는 재생인자로 피부재생과 발모에 직접적인 영향을 미치는 재생인자로 피부재생과 발모에 영향

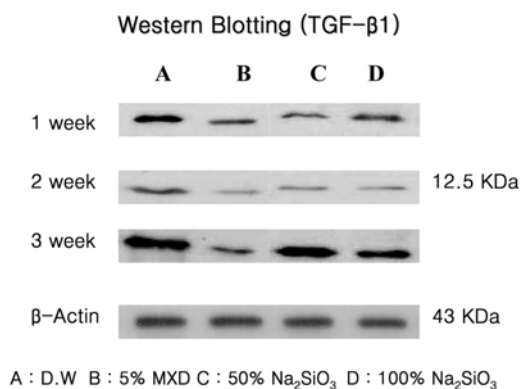


Figure 8. Expression of TGF- β in the dorsal skin of C57BL/6 mice. The animals were shaved with electric clipper and the test compounds applied with 0.2 mL per to the dorsal skin of mice for 3 weeks. D.W.: Distilled water, MXD: 5% Minoxidil.

을 미치는 것으로 알려져 있다(Chapman and Hardy, 1998). 실험결과 EGF의 활성이 음성대조군에 비해 MXD 투여군 및 실험물질 투여군에서 유의적 증가를 보였다. 따라서 시험물질인 규산염이 모발성장을 촉진시킬 것이라 보인다. VEGF는 상피에서 혈관생성을 유도하는 물질이다. 본 실험결과 VEGF의 활성이 대조군에 비해 MXD 투여군 및 실험물질 투여군에서 높게 나타났다. 따라서 시험물질인 Na_2SiO_3 가 VEGF의 활성을 증가시켜 모발 성장 촉진효과를 나타낼 것으로 보인다.

또한 TGF- β 1의 성장인자가 가장 많은 활성도를 보이는 catagen에서 talogen기로 가는 시기에서 발현도가 MXD와 비슷한 양상을 보이며, 대조군보다 확연히 차이가 나는 것을 볼 수 있었다. 따라서 피부조직에서 negative regulator인 TGF- β 1 성장인자의 발현도를 확인하였을 때, 시험물질을 처리한 군들의 피부조직에서 발현도가 낮아짐을 확인할 수 있었다.

결론적으로, 위의 결과로 보아 규산염인 Na_2SiO_3 는 MXD와 같이 C57BL/6 마우스에서 모발의 성장에 영향을 끼치는 물질인 γ -GT, ALP, VEGF, EGF를 증가시키고, negative regulator인 TGF- β 1 성장인자의 발현이 감소됨을 통해 모발의 성장주기에서 털주머니의 빠른 발생과 모발 재생장의 시간을 단축시키며 모발성장을 함에 있어서 도움이 될 수 있다고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부의 지역혁신센터(RIC) 프로그램의 일환으로 서원대학교 친환경 바이오 소재 및 식품센터의 지원에 의하여 연구되었음.

참고문헌

- Barel, A., Calomme, M., Timchenko, A., De Paepe K., Demeester, N., Rogiers, V., Clarys, P. and Vanden Berghe, D. (2005) Effect of oral intake of choline stabilized orthosilicic acid on skin, nails and hair in women with photodamaged skin. *Arch. Dermatol. Res.* 297, 147-153.
- Burton, J.L. and Marshall, A. (1979) Hypertrichosis due to minoxidil. *Br. J. Dermatol.* 101, 593-595.
- Carlberg, I. and Mannervik, B. (1975) Purification and characterization of the flavoenzyme glutathione reductase from rat liver. *Bio. Chem.* 250, 5475-5480.
- Chapman, R.E. and Hardy, M.H. (1988) Effects of intradermally injected and topically applied mouse epidermal growth factor on wool growth, skin and wool follicles of merino sheep. *Aust. J. Biol. Sci.* 41, 261-268.
- Chase, H.B., Rauch, H. and Smith, V.W. (1951) Critical stages of hair development and pigmentation in mouse. *Physiol. Zool.* 24, 1-8.
- Deyoung, L.M., Richards, W.L., Bonzelet, W., Tsai, L.L. and Boutwell, R.K. (1978) Localization and significance of γ -glutamyltranspeptidase in normal and neoplastic mouse skin. *Cancer. Res.* 38, 3697-3701.
- Elmore, A.R. (2005) Final report on the safety assessment of potassium silicate, sodium metasilicate, and sodium silicate. *Int. J. Toxicol.* 24, 103-117.
- Hamada, K. and Suzuki, K. (1996) Evaluation of biochemical indices as a hair cycle marker in C3H mice. *Exp. Anim.* 45, 251-256.
- Handjiski, B.K., Eichmuller, S., Hofmann, U., Czernetzki, B.M. and Paus, R. (1994) Alkaline phosphatase activity and localization during the murine hair cycle. *Br. J. Dermatol.* 131, 303-310.
- Hattori, M. and Ogawa, H. (1983) Biochemical analysis of hair growth from the aspects of aging and enzyme activities. *J. Invest. Dermatol.* 10, 45-54.
- Kaufman, K.D. (1996) Clinical studies on the effects of oral finasteride, a type II 5 α -reductase inhibitor on scalp hair in men with male pattern baldness. In *Hair Research for the Next Millenium* (Neste, D and Randall, V.A. ed.), pp. 363-364, Elsevier Science, Amsterdam.
- Lassus, A. (1993) Colloidal silicic acid for oral and topical treatment of aged skin, fragile hair and brittle nails in females. *J. Int. Med. Res.* 21, 209 - 215.
- Meister, A. and Anderson, M.E. (1983) Glutathione. *Annu. Rev. Biochem.* 52, 711-760.
- Muller-Rover, S., Handjiski, B., van der Veen, C., Eichmuller, S., Foitzik, K., McKay I.A., Stenn, K.S. and Paus, R. (2001) Comprehensive guide for the accurate classification of murine hair follicles in distinct hair cycle stages. *J. Invest. Dermatol.* 117, 3-15.
- Nielsen, F.H. (1991) Nutritional requirements for boron, silicon, vanadium, nickel and arsenic: current knowledge and speculation. *Faseb. J.* 5, 2661-2667.
- Rebora, A. (2004) Pathogenesis of androgenetic alopecia. *J. Am. Acad. Dermatol.* 50, 777-779.
- Schwarz, K. (1978) Significance and functions of silicon in warm-blooded animals. Review and outlook. *Biochemistry of silicon and related problems.* (Bendz, G. and Lindquist. I. ed.), pp. 270-330, Plenum Press, NewYork.
- Seaborn, C.D. and Nielsen, F.H. (2002) Silicon deprivation decreases collagen formation in wounds and bone, and ornithine transaminase enzyme activity in liver. *Biol. Trace. Elem. Res.* 89, 251-261.
- Smith, B.L. (1993) Analysis of hair element levels by age, sex, race, and hair color. In *Trace elements in man and animals-TEMA8* (Anke, M., Meissner, D. and Mills, C.F. ed.), pp 1091-1093, Kluwer, NewYork.
- Stenn, K.S. (1991) The molecular and structural biology of hair: introduction. *Ann. NY. Acad. Sci.* 642, 11-13.
- Sundberg, J.P., Cordy, W.R. and King, L.E.Jr. (1994) Alopecia areata in aging C3H/HeJ mice. *J. Invest. Dermatol.* 102, 847-856.
- Wickett, R.R., Kossmann, E., Barel, A., Demeester, N., Clarys, P., Vanden Berghe, D. and Calomme, M. (2007) Effect of oral intake of choline-stabilized orthosilicic acid on hair tensile strength and morphology in women with fine hair. *Arch. Dermatol. Res.* 299, 499-505.