

탈모생쥐 모델에서 성장주기별 털의 성장과 탈모와 관련된 인자들의 연구

이문원, 오찬호¹, 권진, 송창호², 이창현

우석대학교 한의과대학 해부학교실, ¹의약생명공학과,

²전북대학교 의과대학 해부학교실

간추림 : C57BL/6N 생쥐와 hairless 생쥐에서 털의 성장주기별 피부내 비만세포 수의 변화 및 neuropeptide들의 면역조직화학적 변화를 관찰하고 성장주기별로 일어나는 B림프구, T림프구 및 T림프구의 아형에 관한 면역반응을 관찰함으로써 성장주기별로 일어나는 변화와 탈모와 관련된 인자들을 관찰하고자 하였다.

C57BL/6N 생쥐에서 피부내 비만세포의 수는 출생후 1일째부터 35일째까지는 점차 감소하는 경향을 보였으나 21일째의 탈모가 일어난 부위의 피부에서는 증가하였다. Substance P, CGRP, CRF, CRF-receptor 그리고 CRF-binding protein에 대한 면역조직화학 염색강도는 1, 3, 8일째에는 대체적으로 미약하였으나 35일째에는 매우 강하게 염색되었다. 또한 21일째의 탈모된 생쥐와 29일째 탈모가 일어난 후 새로 발모중인 생쥐를 비교한 바 21일째의 탈모된 생쥐에서 강하게 염색되었다. 비장내 B/T림프구의 분포는 생후 3일째부터 35일째까지는 증가하는 경향을 보였으나 생후 21일째의 탈모군(no pigment)에서는 감소하는 경향을 보였다. 또한 비장의 T림프구 중의 CD4/CD8 양성세포의 비율은 생후 3일째, 8일째, 35일째로 성장하면서 CD4/CD8 양성세포의 비율이 증가하는 경향을 보였으며, 생후 21일째의 탈모군(휴지기의 피부, no pigment)에서는 29일째의 탈모군(성장기의 피부, pigment)에 비하여 특히 CD4 양성세포인 Th 림프구가 현저하게 감소하였다.

Hairless 생쥐에서 피부내 비만세포의 수는 출생후 3일째부터 7일째까지는 큰 변화가 없었으나 13일째부터 21일째까지 비만세포의 수가 현저히 증가하는 경향이었으며 56일째의 생쥐 피부의 비만세포는 탈과립된 비만세포를 많이 관찰할 수 있었다. Substance P, CGRP, CRF에 대한 면역조직화학 염색 강도는 발모가 일어나는 3, 7, 13일째에는 미약하였으나 탈모가 일어나기 시작하는 17일째부터 완전탈모가 일어난 21일째에서 56일째로 성장하면서 매우 강하게 염색되었다. 비장내 B/T림프구의 분포는 생후 13일째에 B/T림프구 모두 최대치를 보였다가 탈모가 시작되는 그 후부터 시간이 경과함에 따라 점차로 감소하였다. 또한 비장의 T림프구 중의 CD4/CD8 양성세포의 비율도 역시 생후 13일째(발모시기)에 최대치를 나타내었다.

이상의 실험결과로 탈모 및 발모와 관련된 인자들은 비만세포 수의 변화, neuropeptide (substance P, CGRP, CRF)의 면역염색 강도 및 면역반응과 복합적인 관계가 있을 것으로 사료된다.

찾아보기 낱말 : 탈모, 비만세포, substance P, CGRP, CRF, CD4, CD8

서론

사회가 발달하면서 탈모로 고민하는 사람들의 수

가 증가하고 있어 많은 연구자들이 이에 부응하여 끊임없이 탈모와 관련된 연구를 진행하고 있다. 특히 잦은 피로, 염색, 스트레스, 다이어트 등으로 인하여 최근에는 탈모여성이 증대되고 있어 성인 탈모는 남성에만 국한된 것이 아니라 여성들에게도 일반적으로 나타나고 있다.

원형탈모증은 면역, 환경 및 유전과 같은 여러 가

*이 논문은 2004년도 학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음(KRF-2004-002-E00189)
교신저자: 이창현(우석대학교 한의과대학 해부학교실)
전자우편: chlee@woosuk.ac.kr

지 원인에 의하여 일어나는 질환으로서 병인은 성장기 (anagen)의 모낭을 표적으로 하는 활성화된 $CD4^+$ 와 $CD8^+$ T세포의 상호작용에 의하여 아직까지 밝혀지지 않은 항원에 대한 세포매개성 면역반응이 활성화되어 나타나는 자가면역 질환으로서 (Carroll 등 2002), 갑작기 그리고 종종 반흔으로 나타나는 털소실로서 정확한 병인은 알 수 없으나 면역계의 이상에 의하여 일어나는 것으로 생각하고 있다. 이 질환은 모구 (hair bulb) 내 또는 주위에 림프구의 침윤 (Sato 1976)과 모낭에 영향을 미치는 랑거한스세포의 증가 (Kohchiyama 등 1985), 모낭 주위에 면역반응 산물 (Bystryn 등 1979) 및 모구내 class I 또는 class II MHC 항원의 발현이 증가된다고 하였다 (Khoury 1988).

원형탈모시 비만세포의 수는 증가하여 털의 성장기 (anagen), 퇴화기 (catagen), 휴지기 (telogen) 사이에서 주기적으로 스위치 역할을 하면서 털의 성장을 조절하는 데 관여한다 (Paus와 Link 1988). 이러한 털의 성장주기는 아직 밝혀지지 않은 기전에 의하여 발생 단계마다 엄격하게 통제되어 복잡한 기전에 의하여 조직을 재구성한다 (Hardy 1992, Stenn 등 1993). 그러므로 털의 성장주기는 비만세포 수의 변화와 관계가 있으며, 진피내 히스타민, 세로토닌, glycosaminoglycans과 같은 비만세포 분비물의 농도와도 관계가 있다고 하였다 (Moretti 등 1967, 1976).

털의 주기적인 성장활동은 상피-간엽 (Link 등 1990, Paus 등 1991), 상피-간엽-신경외배엽 (Slominski 등 1991, Stenn 등 1993)의 상호관계를 연구하는 데 훌륭한 모델이 되며, 털의 성장에 있어서 비만세포의 기능을 이해함으로써 비만세포와 조직과의 상호작용에 의한 다기능세포들의 생리학적 기능을 이해하는 데 지견을 제공하리라 사료된다.

털의 성장조절은 감각신경이 관여하는데 감각신경세포에서 분비되는 neuropeptide인 substance P는 신경세포체에서 합성되어 소포형태로 말초신경종말에 전달한다 (Tausk 등 1993). Substance P는 혈액순환 조절, 선분비 활동 및 피부염증 반응과 같은 많은 운동기능을 하며 (Tausk 등 1993), 최근에는 상처 치유, 표피 및 미뢰 등의 여러 가지 상피세포의 유지에 관여한다고 하였다 (Paus 등 1995).

스트레스와 같은 정신적인 요인도 병적인 알레르기반응 (Williams 등 1992)과 많은 피부병 즉 아토피성피부염 (Van Moffaert 1992)과 원형탈모증 (De Waard-Vanderspek 등 1989)을 유발한다. 스트레스는 vasoactive neuropeptide (Wallengren 등 1986), lymphokines 그리고 다른 화학적 매개물질을 통하여 염증반응에 관여한다고 하였다 (Sternberg 등 1992).

이러한 탈모 및 발모와 관련된 여러 가지 요인들은 매우 복잡 다양하기 때문에 정확한 기전을 밝히기가 어려우므로 탈모치료제를 개발하는 데도 어려움이 있었다. 본 연구에서는 C57BL/6N 생쥐와 hairless 생쥐에서 털의 성장주기별로 일어나는 비만세포 수의 변화와 neuropeptide들의 면역조직학적 변화를 관찰하고 성장주기별로 일어나는 B림프구와 T림프구 및 T림프구의 아형에 관한 면역반응을 관찰함으로써 털의 성장주기별로 일어나는 탈모 및 발모와 관련된 인자들을 찾아내고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험동물

C57BL/6N 생쥐와 hairless 생쥐에서 털의 성장 주기별 변화

1) 체중 25 g 내외의 C57BL/6N 정상 생쥐 10마리를 교미시킨 후 분만한 신생자를 출생후 1일, 3일, 7일, 35일째의 정상 생쥐와 21일째에 탈모된 생쥐 (국소적으로 탈모가 일어난 피부를 21A-1이라 하며, 탈모 안 된 정상 피부를 21A-2라 함) 및 탈모 후 29일째에 발모가 일어나는 생쥐 (국소적으로 탈모 후 발모가 일어나는 피부를 29A-1이라 하며, 탈모 안 된 정상 피부를 29A-2라 함) 각각 6마리씩 희생시켜 C57BL/6N 정상 생쥐에서 생쥐의 성장주기별 또는 탈모와 발모가 일어나는 생쥐에서의 여러 가지 변화를 관찰하는 데 이용하였다 (Fig. 1).

2) 체중 25 g 내외의 hairless 생쥐 10마리를 교미시킨 후 분만한 신생자를 출생후 1일, 3일, 7일, 13일 (이상 발모시기), 17일 (탈모시작), 21일 (탈모 중), 35일째 (완전탈모)에 각각 6마리씩 희생시켜 hairless 생쥐에서 생쥐의 성장주기별 탈모부위와 발모부위

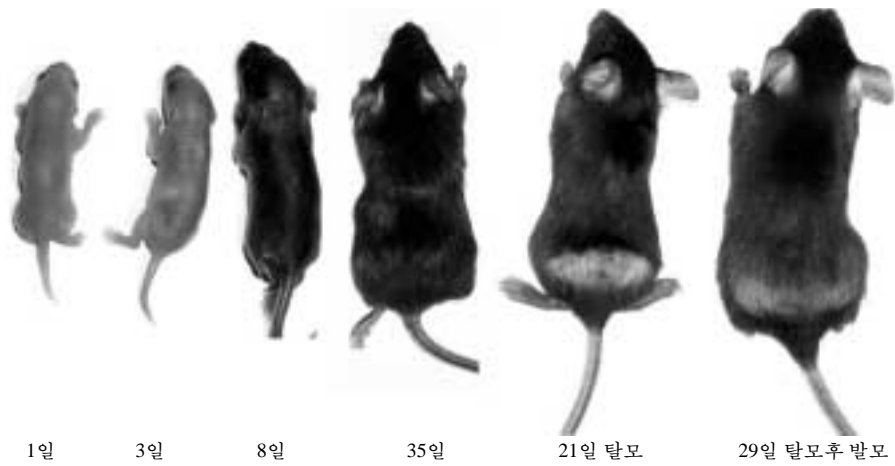


Fig. 1. Photograph of C57BL/6N mice during their postnatal growth periods.

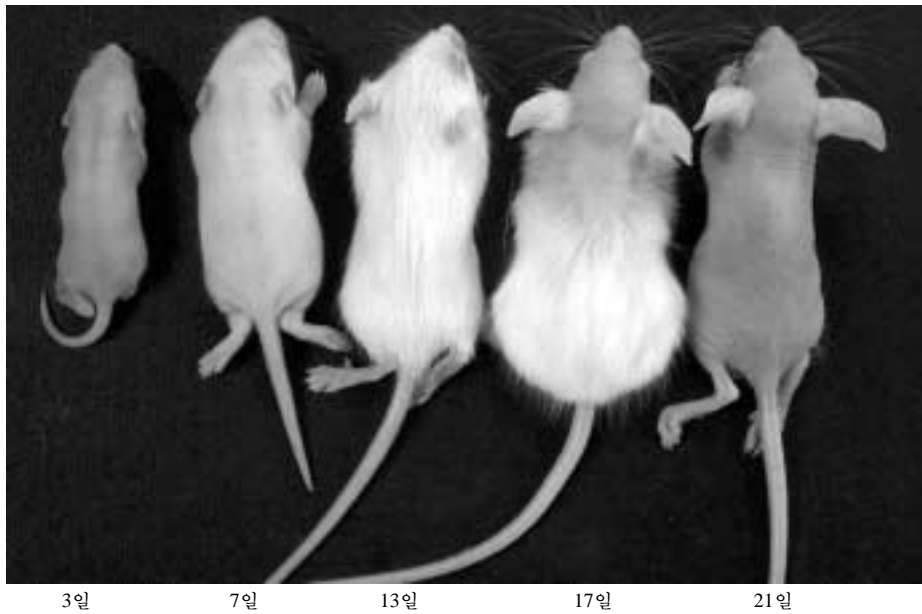


Fig. 2. Photograph of hairless mice during their postnatal growth period.

의 변화를 관찰하는 데 이용하였다(Fig. 2).

2. 관찰방법

1) 피부의 광학현미경적 소견

피부의 조직을 관찰하기 위하여 마취하에서 등쪽

피부의 탈모된 부위를 척추선에 평행하게 절개하여 normal buffered formalin 용액과 Carnoy 용액으로 고정하였다. 고정 후 일반적인 방법에 의하여 수세, 탈수과정을 거쳐 파라핀으로 포매하며, 포매후 7 μ m의 절편을 제작하여 조직학적 구조를 관찰하기 위

하여 H&E 염색을 시행하였고, 비만세포 수의 변화를 관찰하기 위하여 toluidine blue와 alcian blue 염색을 시행하였다. 또한 피부 조직내 여러가지 neuropeptide를 관찰하기 위하여 면역 조직화학적 염색법을 이용하였다.

2) 피부의 면역조직화학염색 소견

피부조직내 neuropeptide를 관찰하기 위하여 calcitonin gene related peptide (CGRP)와 substance-P 면역조직화학 염색을 시행하였다. 면역조직화학 염색을 위해 박절한 조직을 0.1 M phosphate buffer (PB) 로 세척한 후 조직 절편내에 내재되어 있을 과산화효소를 제거하기 위하여 0.3% H₂O₂로 처리하고 1% normal goat serum과 0.3% triton X-100으로 1시간 처리하여 비특이성 항원의 반응을 제거하였다. CGRP 염색은 1 : 4000으로 희석한 일차항체 (rabbit anti-CGRP)를, substance P 염색은 1 : 3000으로 희석한 1차항체 (rabbit anti-substance P)를 조직절편에 떨어뜨린 후 실온에서 24시간 동안 반응시켰다.

스트레스 관련 neuropeptide의 염색을 위하여 1차 항체는 rabbit polyclonal antibody인 CRF, CRF-receptor, CRF-binding protein (Santa cruz) 항체를 이용하였다. 염색은 각각의 항체를 1 : 500으로 희석한 1차 항체를 조직절편에 떨어뜨려 실온에서 12시간 내지 24시간 동안 반응시켰다. 이때 1차 항체의 희석은 0.1 M PB에 1% normal goat serum (Vector Laboratories, Inc.)과 0.3% Triton X-100 (Sigma)이 섞여 있는 것을 사용하였다. 그 후 조직절편들은 실온에서 15분간 2회 0.1 M PB로 세척하며 Hsu 등 (1981)의 방법에 따라 2차 항체인 1 : 200으로 희석된 biotinylated anti-rabbit IgG (Vector Laboratories, Inc.)에 실온에서 1시간 가량 반응시켰다. 다시 15분간 2회 0.1 M PB 수세과정을 거친 후 peroxidase가 표지된 ABC 용액에 담가 실온에서 1시간 가량 반응시켰다. 그후 다시 0.1M PB로 15분간 2회 수세하고 나서 30 mg의 3-3' diaminobenzidine를 150 mL의 0.1 M PB에 녹인 용액에서 5분간 반응시킨 후 과산화수소를 0.005% 되게 첨가하여 갈색의 발색반응을 약 5분간 시행하였다. 반응이 끝난 조직들을 다시 0.1 M PB로 여러차례 수세하고 gelatin이 입혀

진 슬라이드 위에 차례대로 얹어 4°C에서 12시간 이상 건조시켰다. 그 후 통상적인 방법에 따라 탈수와 투명화를 거친 후 permount로 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였다.

3) 비장과 흉선의 T & B 림프구와 아세포의 변화

C57BL/6N 생쥐와 hairless 생쥐의 성장주기별 T & B 림프구를 관찰하기 위하여 경추를 탈구시켜 비장 및 흉선을 적출한 후, 비장 및 흉선세포 부유액을 조제하고 1 × 10⁶ cells/well에 PE conjugated-anti B220 및 FITC-anti Thy1 antibody와 PE-anti CD4/-FITC-anti CD8 monoclonal antibody (1 : 30 dilution) 로 이중 염색하여 4°C에서 30분간 반응시키고 laser flow cytometer (excitation: 488 nm, emission: 525 nm/FITC, 575 nm/PE)를 이용하여 각각의 세포 중의 림프구의 아집단을 측정하였다 (Shortman 등 1974).

4) 통계분석

모든 자료는 mean ± SE이며, 통계학적 유의성 검정은 student's *t* test에 의하여 검정하였다. P값은 P < 0.05만 유의성이 있는 것으로 인정하였다.

결 과

C57BL/6N 생쥐와 hairless 생쥐 모델을 이용하여 털의 성장 주기별로 일어나는 비만세포 수의 변화 및 염색시약에 따른 비만세포의 분포비율, neuropeptide (substance P, CGRP, CRF, CRF-receptor, CRF-binding protein)의 염색강도, flow cytometry에 의한 비장과 흉선의 T & B 림프구의 변화 등을 관찰하여 탈모와 관련된 여러가지 인자들을 종합적으로 관찰하였다.

1. C57BL/6N 생쥐를 이용하여 탈모가 일어난 생쥐의 피부, 탈모 후 발모가 시작되는 생쥐의 피부 및 정상 생쥐의 성장주기별 발모와 관련된 인자 관찰

1) 비만세포 수의 변화

Toluidin blue에 염색된 비만세포의 수는 출생 후 1

Table 1. Numerical changes of mast cells stained by toluidine blue and alcian blue during postnatal growth periods in C57BL/6N mice

	1 Day	3 Day	8 Day	35 Day	21A-1 ¹	21A-2 ²	29A-1 ³	29A-2 ⁴
TB ⁵	48.8±3.2	32.7±2.3	23.6±3.6	24.6±4.6	55.1±4.3	26.0±4.2	29.8±4.3	12.1±3.4
AB ⁶	17.0±3.7	8.5±3.5	12.8±6.8	3.5±1.9	17.4±4.6	12.8±3.0	1.8±1.5	2.2±1.5

¹21A-1 : Alopecia areata, no pigment (telogen phase), ²21A-2 : Normal skin area, ³29A-1 : After alopecia areata, pigment (anagen phase), ⁴29A-2 : Normal skin area, ⁵TB : Toluidine blue, ⁶AB : Alcian blue

일째에는 48.8±3.2개, 3일째에는 32.7±2.3개, 8일째에는 23.6±3.6개, 21일째에는 26.0±4.2개 그리고 35일째에는 24.6±4.6개로 출생 후부터 성장을 하면서 비만세포의 수는 점차 감소하는 경향을 보였다. 그러나 21일째 탈모가 일어난 부위(21A-1)와 탈모가 일어나지 않은 부위(21A-2)에서는 각각 55.1±4.3개 (Fig. 7)와 26.0±4.2개 (Fig. 9)로서 두 부위에서는 많은 차이를 보였으며, 29일째 탈모 후 발모가 일어나고 있는 부위(29A-1)와 탈모가 일어나지 않은 부위(29A-2)에서는 각각 29.8±4.3개와 12.1±3.4개로서 두 부위에서도 많은 차이를 나타내었다(Table 1).

Alcian blue에 염색된 비만세포의 수는 출생 후 1일째에는 17.0±3.7, 3일째에는 8.5±3.5개, 8일째에는 12.8±6.8개, 21일째에는 12.8±3.0개 그리고 35일째에는 3.5±1.9개로 출생 후부터 성장을 하면서 점차 감소하는 경향을 보였다. 그러나 21일째 탈모가 일어난 부위와 탈모가 일어나지 않은 부위에서는 각각 17.4±4.6개 (Fig. 8)와 12.8±3.0개 (Fig. 10)로서 두 부위에는 약간의 차이를 보였으나 29일째 탈모 후 발모가 일어나고 있는 부위와 탈모가 일어나지 않은 부위에서는 각각 1.8±1.5개와 2.2±1.5개로서 두 부위에서는 차이를 보이지는 않았으나 탈모 부위와 비교했을 때는 많은 차이를 나타내었다(Table 1).

2) 면역조직화학 염색법에 의한 neuropeptide의 염색 강도

Substance P, CGRP, CRF, CRF-receptor 그리고 CRF-binding protein을 이용하여 C57BL/6N의 성장 주기별 염색강도를 관찰한 바 1, 3, 8일째 (Figs. 11, 13, 15, 17, 19)에는 대체적으로 염색강도는 미약하였으나 출생 후 약 35일째에는 매우 강하게 염색되

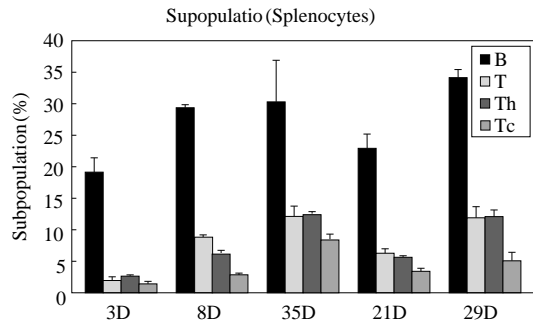


Fig. 3. The changes of subpopulations of splenocytes during postnatal growth periods in C57BL/6N mice B, B-lymphocytes; T, T-lymphocytes; Th, T-helper cells; Tc, T-cytotoxic cells. 3D, 3 day; 8D, 8 day; 35D, 35 day; 21D, 21 day; 29D, 29 day.

었다 (Figs. 12, 14, 16, 18, 20). 또한 21일째 탈모생쥐와 29일째 탈모 후 발모생쥐를 비교한 바 21일째 탈모생쥐에서 강하게 염색되었다 (Table 4).

3) 비장과 흉선에서의 면역반응

C57BL/6N 생쥐의 비장내 B/T림프구의 분포는 생후 3일째는 19.1±2.3/2.0±0.5%이었던 것에 비하여 8일째에 29.3±0.5/8.7±0.4%, 35일째에는 30.2±5.6/12.2±1.5%로 점차 증가했으며, 생후 21일의 탈모군 (휴지기 피부, no pigment)은 22.8±2.3/ 6.2±0.8%에 비해 29일째의 탈모군 (성장기 피부, pigment)에서는 34.1±1.2/11.8± 1.7%로 B/T림프구의 비율이 모두 현저하게 증가하였다 (Fig. 3). 또한 비장 T림프구 중의 CD4/CD8 양성세포의 비율을 관찰한 결과, 생후 3일째, 8일째, 35일째에서 각각 2.6±0.3/1.5±0.2, 6.1±0.6/ 2.8±0.2, 12.3±0.6/8.4±0.8%로 성장과 더불어 CD4/CD8 양성세포의 비율이 증가하는 패턴을 보였으며, 생후 21일의 탈모군

(21A-1, no pigment)의 $5.5 \pm 0.4/3.4 \pm 0.4\%$ 에 비하여 29일째의 탈모 후 발모군(29A-1, pigment)에서 $12.0 \pm 1.0/5.8 \pm 0.7\%$ 로 특히 CD4 양성세포인 Th림프구가 현저하게 증가하였다(Fig. 3). 한편, 흉선세포에서의 CD4/CD8 양성세포는 생후 3일째, 8일째, 35일째에서 각각 $6.8 \pm 0.9/1.2 \pm 0.3$, $5.9 \pm 0.9/0.4 \pm 0.1$, $7.9 \pm 0.5/1.9 \pm 0.1\%$ 로 큰 변화는 보이지 않았으며, 생후 21일째의 탈모군(no pigment)에서는 $6.9 \pm 0.1/1.9 \pm 0.1\%$ 였으며 29일째의 탈모 후 발모군(pigment)에서는 $6.9 \pm 0.8/1.1 \pm 0.2\%$ 로 두 군간에는 차이가 없었다(Fig. 4).

2. Hairless 생쥐의 특성을 이용하여 출생 후 1일째부터 13일째까지 일어나는 발모시기와 17일째 이후의 탈모시기에 일어나는 털의 발생 및 탈모와 관련된 인자 관찰

1) 조직관찰 소견

출생 후 1일째부터 3일째까지 모낭의 발육이 시작되며 피지샘의 발육이 미약하며, 진피의 두께는 $105 \sim 140 \mu\text{m}$ 였다(Fig. 21). 출생 후 7일째부터 진피층에서 모낭의 발육이 현저히 일어나며 진피의 두께가 $155 \sim 160 \mu\text{m}$ 정도로 두꺼워졌다. 출생 후 13일째는 모낭이 현저하게 발육하고 진피층내 피지샘이 발달하며 진피층의 두께는 $175 \sim 200 \mu\text{m}$ 정도로 두꺼워졌다. 출생 후 17일째부터 모낭이 소실되기 시

작하며 피지샘은 더욱 발달한다. 출생 후 21일째에는 모낭의 소실이 완전히 일어나며 진피층은 $175 \sim 225 \mu\text{m}$ 정도로 두꺼워지고 피지샘이 계속 발달하였다(Fig. 22). 출생 후 56일째는 피지샘의 발육이 현저하며 진피층과 피하층의 결합조직층이 두꺼워지고 모낭의 퇴화 및 비만세포 탈과립 현상이 뚜렷하게 관찰되었다. 또한 진피층의 두께는 $425 \sim 505 \mu\text{m}$ 정도로 두꺼워졌다(Figs. 23, 26).

2) 비만세포 수의 변화

Toluidin blue에 염색된 비만세포의 수는 출생 후 3일째부터 7일째까지는 큰 변화가 없었으나 13일째

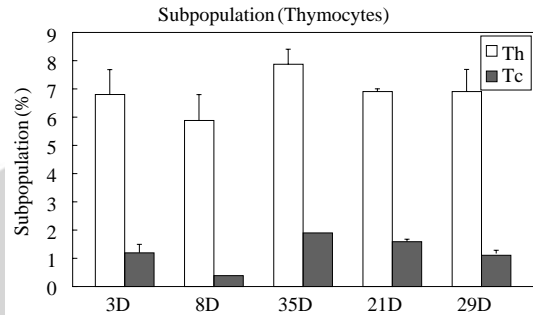


Fig. 4. The changes of subpopulations of thymocytes during postnatal growth periods in C57BL/6N mice Th, T-helper cell; Tc, T-cytotoxic cell. 3D, 3 day; 8D, 8 day; 35D, 35 day; 21D, 21 day; 29D, 29 day.

Table 2. Numerical changes of mast cells stained by toluidine blue and alcian blue during postnatal growth periods in hairless mice

	3 Day	7 Day	13 Day	17 Day	21 Day	56 Day
TB ¹	29.3 ± 4.2	27.5 ± 4.9	37.8 ± 4.9	40.6 ± 4.9	77.6 ± 4.1	40.3 ± 4.5
AB ²	15.7 ± 3.8	4.9 ± 1.5	13.8 ± 2.4	22.3 ± 5.8	17.9 ± 2.9	26.6 ± 4.7

¹. TB : Toluidine blue, ². AB : Alcian blue

Table 3. The immunohistochemical stain density on the neuropeptides of skin during postnatal growth periods in C57BL/6N

	1 Day	3 Day	8 Day	35 Day	21A-1	21A-2	29A-1	29A-2
SP ¹	+	+	+	++++	++	+	+	+
CGRP ²	+	+	+	++++	++	+	+	+
CRF ³	+	+	+	+++	++	+	+	+
CRF-R ⁴	+	+	+	+++	++	+	+	+
CRF-BP ⁵	+	+	+	+++	++	+	+	+

Immunohistochemical staining density; +, weak stain; ++, mild stain; +++, strong stain. ¹SP, Substance P; ²CGRP, Calcitonin gene related peptide; ³CRF, Corticotropin releasing factor; ⁴CRF-R, Corticotropin releasing factor-receptor; ⁵ CRF-BP, Corticotropin releasing factor-binding protein

(37.8±4.9)부터 21일째 (77.6±4.1) (Fig. 24)까지 비만세포의 수가 현저히 증가하는 경향이었으나 56일째에서는 40.3±4.5개로 점차 감소하는 경향이였다. 그러나 56일째의 비만세포는 탈과립 된 비만세포를 많이 관찰할 수 있었다(Fig. 27).

Alcian blue에 염색된 비만세포의 수는 3, 7, 13일째에는 큰 변화가 없었으나 17일째부터 56일째로 성장하면서 비만세포의 수가 증가하는 경향을 보였다(Table 2, Figs. 25, 28).

3) 면역조직화학 염색법에 의한 neuropeptide의 염색 강도

Substance P, CGRP, CRF, CRF-receptor 그리고 CRF-binding protein을 이용하여 hairless mice의 성장주기별 염색강도를 관찰한 바 Substance P, CGRP, CRF에 대한 면역염색 반응은 발모가 일어나는 3, 7, 13일째에는 미약하게 염색되었으나 (Figs. 29, 32, 35) 완전탈모가 일어난 21일에서 56일째로 성장하면서 매우 강하게 염색되었다 (Figs. 30, 31, 33, 34, 36). 그러나 CRF-R과 CRF-BP에서는 큰 차이를 관찰할 수 없었다 (Table 4).

4) 면역반응

Hairless 생쥐에서의 비장내 B/T림프구의 분포는 생후 3일째에 8.8±1.1/4.4±0.5%, 7일째에 4.6±0.2/1.7±0.1%, 13일째는 26.7±2.4/11.0±0.5%, 17일째 24.3±0.6/8.8±0.4%, 21일째는 13.7±0.3/2.6±0.1%, 56일째는 13.9±1.5/7.3±0.2%로 생후 13일째에 B/T림프구 모두 최대치를 보였다가 시간이 경과함에 따라 점차로 감소하였다 (Fig. 5). 또한 비장 T림프구 중의 CD4/CD8 양성세포의 비율은 생후

3일, 7일, 13일, 17일, 21일, 56일째에 각각 2.4±0.4/1.1±0.2, 0.9±0.1/0.3±0.1, 10.0±0.4/2.8±0.1, 9.2±0.1/2.3±0.3, 2.0±0.2/0.7±0.1 및 4.9±0.2/1.8±0.1%로 역시 생후 13일째에 최대치를 나타내었다 (Fig. 5). 한편, 흉선세포에서의 CD4/CD8 양성세포의 비율은 생후 3일, 7일, 13일, 17일, 21일, 56일째에 각각 10.0±1.1/0.8±0.2, 4.6±0.4/0.6±0.3, 7.7±0.4/0.5±0.1, 12.0±0.2/0.7±0.2, 11.9±0.1/1.9±1.0 및 10.2±0.7/1.2±0.3%로 13일째와 17일째에서 가장 높았다 (Fig. 6).

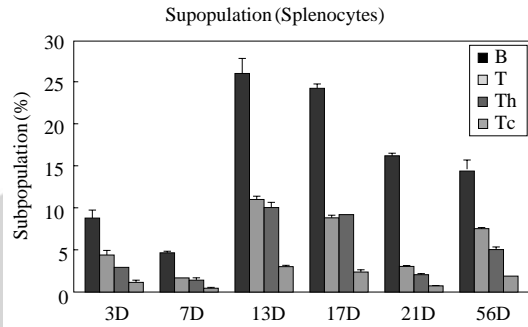


Fig. 5. The changes of subpopulations of splenocytes during postnatal growth periods in hairless mice B, B-lymphocytes; T, T-lymphocytes; Th, T-helper cells; Tc, T-cytotoxic cells. 3D, 3 day; 7D, 7 day; 13D, 13 day; 17D, 17 day; 21D, 21 day; 56D, 56 day.

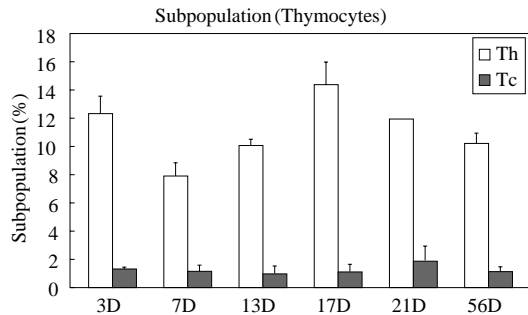


Fig. 6. The changes of subpopulations of thymocytes during postnatal growth periods in hairless mice. Th, T-helper cell; Tc, T-cytotoxic cell. 3D, 3 day; 7D, 7 day; 13D, 13 day; 17D, 17 day; 21D, 21 day; 56D, 56 day.

Table 4. The immunohistochemical stain density on the neuropeptides of skin during postnatal growth periods in hairless mice

	3 Day	7 Day	13 Day	17 Day	21 Day	56 Day
SP ¹	+	+	++	++	+++	++++
CGRP ²	+	+	+	+++	+++	++++
CRF ³	+	+	+	+++	+++	+++

Immunohistochemical staining density; +, weak stain; ++, mild stain; +++, strong stain. ¹SP, Substance P; ²CGRP, Calcitonin gene related peptide; ³CRF, Corticotropin releasing factor

고 찰

탈모 및 발모와 관련된 여러 가지 요인들은 매우 복잡하기 때문에 정확한 기전을 밝히기가 어려우므로 탈모치료제를 개발하는 데도 어려움이 있었다. 본 연구에서는 C57BL/6N 생쥐와 hairless 생쥐에서 털의 성장주기별로 일어나는 비만세포 수의 변화와 neuropeptide들의 면역 조직화학적 변화를 관찰하고 성장주기별로 일어나는 B림프구와 T림프구 및 T림프구의 아형에 관한 면역반응을 관찰함으로써 털의 성장주기별로 일어나는 탈모를 일으키는 요인들을 찾아내고자 하였다.

정상적인 피부에서 비만세포의 기능은 아직은 확실하지 않으나 알레르기반응, 염증질환 또는 침입하는 미생물에 대한 방어기능에 관여한다. 이러한 비만세포의 탈과립은 그 부위에서의 국소적인 세포변환을 유발하는 효과가 있으며 (Norrby 등 1976, Franzen과 Norrby 1980), 흰쥐의 비만세포내 heparin과 serotonin 물질이 털의 성장과 관련된 여러 가지 변화를 일으킬 것으로 생각하고 있다 (Enerback와 Mellblom 1978). 비만세포는 사이토카인, eicosanoids, proteases, 염증매개물질, glycosaminoglycans과 같은 성장조절인자들을 만들어 방출함으로써 조직재구성과 털의 성장조절에 관여하는 것으로 생각한다 (Paul 등 1993, Schwartz 1993). Histamine 방출물 (Stern과 Misirlija 1958) 또는 heparin과 같은 glycosaminoglycan을 연속적으로 투여하면 (Paus 등 1991) 설치류에서 털의 성장을 지연시킨다고 하였으며, 사람의 피부에서는 진피층내 모낭주위에 비만세포의 수가 많이 증가한다고 알려지고 있다 (Mikhail과 Miller-Molinska 1964).

털의 성장주기별 비만세포 수의 변화는 털을 뽑은 후 성장기 II에서의 비만세포의 수는 최소로 감소하였으나 성장기 IV에서는 다시 증가하기 시작하여 휴지기보다 훨씬 많이 증가한다고 하였으며, 성장기 말에는 성장기 VI에 비하여 감소하여 휴지기 와 비슷하게 관찰된다고 하였다 (Paus 등 1994b). 성장기 후기 (V-VI)에 비만세포는 진피와 피하층 사이에 주로 존재하나 성장기 초기와 휴지기에서는

이와는 반대로 분포한다. 피부의 혈관과 신경이외에도 비만세포는 털의 성장주기 모든 단계에서 모낭 주위에 존재하고, 많은 모낭주위의 비만세포는 모구의 인접부위, 즉 모낭의 줄기세포 인접부위에 존재한다고 하였고 (Cotsarelis 등 1990), 오랫동안 털의 성장조절에 관여하는 간엽조직으로 알려진 진피유두 인접부위에 존재한다고 하였다 (Hardy 1992).

털을 뽑아 성장기를 유발한 후 초기에는 비만세포의 70% 이상이 탈과립 된다고 하였으나 휴지기 피부에서는 약 5.8% 정도 탈과립이 일어난다고 하였다 (Paus 등 1994). 그러나 성장기 III에서는 Giemsa에 염색된 비만세포의 90% 이상이 탈과립이 일어나지 않았으며 이러한 현상은 성장기 후기까지 지속된다고 하였다 (Paus 등 1994).

본 실험의 C57BL/6N 생쥐에서 toluidin blue에 염색된 비만세포의 수는 출생 후 1일째부터 35일째까지는 점차 감소하는 경향을 보였다. 그러나 21일째 탈모가 일어난 부위와 탈모가 일어나지 않은 부위에서는 각각 55.1 ± 4.3 개와 26.0 ± 4.2 개로서 두 부위에서는 많은 차이를 보였으며, 29일째 탈모 후 발모가 일어나고 있는 부위와 탈모가 일어나지 않은 부위에서는 각각 29.8 ± 4.3 개와 12.1 ± 3.4 개로서 두 부위에서도 많은 차이를 나타내어 탈모부위에서의 비만세포의 숫적 증가를 나타내었다. Hairless 생쥐에서는 toluidin blue에 염색된 비만세포의 수는 출생 후 3일째부터 7일째까지는 큰 변화가 없었으나 13일째부터 21일째까지 비만세포의 수가 현저히 증가하는 경향이였으며 56일째의 비만세포는 탈과립된 비만세포를 많이 관찰할 수 있어 17일째부터 탈모가 시작되는 hairless 생쥐에서의 비만세포의 숫적 증가가 탈모와 관련이 있을 것으로 사료된다.

털의 성장조절은 감각신경이 관여하며, 감각신경 세포에서 분비되는 neuropeptide인 substance P는 신경세포체에서 합성되어 소포형태로 말초신경종말에 전달된다 (Tausk 등 1993). Substance P는 혈액순환 조절, 선분비 활동 및 피부염증 반응과 같은 많은 기능을 발휘한다 (Tausk 등 1993).

본 실험의 C57BL/6N 생쥐에서 substance P와 CGRP를 이용하여 C57BL/6N의 성장주기별 염색강도를 관찰한 바 1, 3, 8일째에는 대체적으로 염색강

도는 미약하였으나 출생 후 약 35일째에는 매우 강하게 염색되었다. 또한 21일째 탈모생쥐와 29일째 탈모 후 발모생쥐를 비교한 바 21일째의 탈모생쥐에서 강하게 염색되었다. Hairless mice의 성장주기별 염색강도를 관찰한 바 substance P와 CGRP에 대한 면역염색 반응은 발모가 일어나는 3, 7, 13일째에는 미약하게 염색되었으나 탈모가 일어나기 시작하는 17일째부터 탈모가 진행되는 21일째에서 56일째로 성장하면서 매우 강하게 염색되었다. 이러한 substance P와 CGRP가 탈모된 C57BL/6N 생쥐와 탈모되기 시작하는 hairless 생쥐에서 강하게 염색된 것은 털의 성장주기에 따른 변화로서 탈모와 밀접한 관련이 있을 것으로 사료된다.

스트레스와 같은 정신적인 요인은 병적인 알레르기반응과(Williams 등 1992) 많은 피부병 즉 아토피성 피부염(Van Moffaert 1992)과 원형탈모증(De Waard-Vanderspek 등 1989)을 유발한다. 스트레스는 vasoactive neuropeptide(Wallengren 등 1986), lymphokines 그리고 다른 화학 매개물질을 통하여 염증반응에 관여한다(Sternberg 등 1992). In situ hybridization방법으로 스트레스하에서 시상하부에서 방출되는 주요 인자인 corticotropin releasing hormone(CRH)으로서 2가지 수용체(CRH-1, CRH-2 α or CRH-2 β)를 가지고 있으며(Chrousos 1995), 이들은 뇌수체에서 발견되나 뇌 이외에서도 발견된다(Lovenberg 등 1995). 이 CRH는 proinflammatory action을 가지고 있으며(Karalis 등 1991), CRH와 급성 스트레스는(Singh 등 1999) 원형탈모증 모델 설치류 피부에서 비만세포 탈과립과 혈관투과성을 증가시켜 모낭 주위에 스트레스에 의하여 유발된 염증세포의 침윤의 축적을 일으킨다고 알려져 있다(Jaworsky 등 1992).

본 실험의 C57BL/6N 생쥐에서 CRF, CRF-receptor 그리고 CRF-binding protein의 성장주기별 염색강도를 관찰한 바 1, 3, 8일째에는 대체적으로 염색강도는 미약하였으나 출생 후 약 35일째에는 매우 강하게 염색되었다. 또한 21일째 탈모생쥐와 29일째 탈모후 발모생쥐를 비교한 바 21일째 탈모생쥐에서 강하게 염색되었다. Hairless 생쥐에서 CRF에 대한 면역염색 반응은 발모가 일어나는 3, 7, 13일째에는

미약하게 염색되었으나 탈모가 일어나기 시작하는 17일째부터 탈모가 진행되는 21일에서 56일째로 성장하면서 매우 강하게 염색되었다. 그러나 CRF-R과 CRF-BP에서는 큰 차이를 관찰할 수 없었다.

이러한 인자가운데 CRH가 21일째의 C57BL/6N 탈모생쥐와 17일째부터 탈모가 진행되는 초기부터 56일째로 성장하는 hairless 생쥐에서 강한 면역반응을 나타낸 것은 이 호르몬에 의하여 비만세포의 탈과립과 혈관투과성 향진에 의한 염증세포의 침윤을 초래하여 탈모를 일으킬 것으로 사료된다.

털의 성장과 관련된 연구는 털의 성장주기를 조절하는 면역억제제인 cyclosporin A와 FK506이 설치류에서 털의 성장기를 유발시키며 털의 퇴화기를 억제한다고 하였고(Paus 등 1996, Paus 등 1989, Taylor 등 1993), 반대로 면역억제제인 glucocorticoid를 국소적으로 사용하면 생쥐에서 털의 성장기 유발을 억제하거나 퇴화기를 유도한다고 하였다(Paus 등 1994a).

본 실험의 C57BL/6N 생쥐의 비장내 B/T림프구의 분포비율은 생후 3일째부터 35일째까지 점차 증가했으며, 생후 21일의 탈모군(no pigment)은 29일째의 탈모군(pigment)에 비해 B/T림프구의 비율이 모두 현저하게 감소하였다. 또한 비장 T림프구 중의 CD4/CD8 양성세포의 비율을 관찰한 결과, 생후 3일째에서 35일째로 성장함에 따라 CD4/CD8 양성세포의 비율이 증가하는 경향을 보였으며, 생후 21일의 탈모군(no pigment)이 29일째의 탈모 후 발모군(pigment)에 비하여 특히 CD4양성세포인 Th림프구가 현저하게 감소하였다. Hairless 생쥐에서의 비장내 B/T림프구의 분포는 생후 13일째(발모시기)에 B/T림프구 모두 최대치를 보였다가 시간이 경과함에 따라 점차로 감소하였다. 또한 비장 T림프구중의 CD4/CD8 양성세포의 비율도 발모시기인 생후 13일째에 최대치를 나타내었다.

이러한 면역반응은 털의 성장주기에 따라 B/T 림프구도 주기적으로 변화하며 탈모시에는 감소하는 것으로 보아 비장과 흉선에서의 B/T 림프구 또는 CD4/CD8 양성세포의 감소가 탈모와 관련이 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

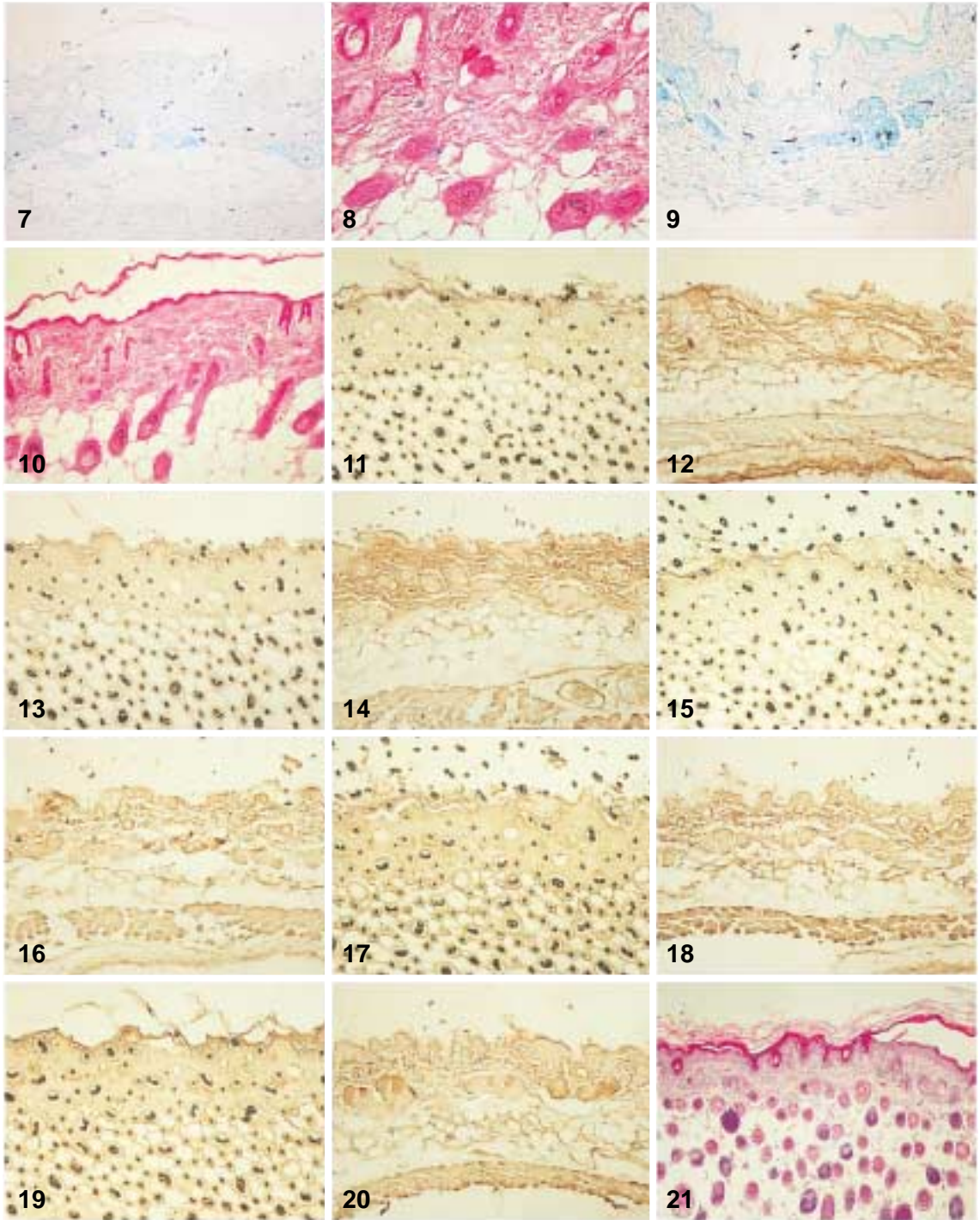
- Bystryn J-C, Orentreich N, Stengel F : Direct immunofluorescence studies in alopecia areata and male pattern alopecia. *J Invest Dermatol* 73 : 317-320, 1979.
- Carroll J, McElwee KJ, King LE, Byrne M, Sundberg JP : Gene array profiling and immunomodulation studies define a cell mediated immune response underlying the pathogenesis of alopecia areata in a mouse model and humans. *J Invest Dermatol* 119 : 392-402, 2002.
- Chrousos GP : The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation. *N Engl J Med* 332 : 1351-1362, 1995.
- Cotsarelis G, Sun TT, Lavker RM : Label-retaining cells reside in the bulge area of pilosebaceous unit: Implications for follicular stem cells, hair cycle, and skin carcinogenesis. *Cell* 61 : 1329-1337, 1990.
- De Waard-Vanderspek FB, Orange AP, De Raeymaecker DM, Peereboom-Wynia JD : Juvenile versus maturity-onset alopecia areata-A comparative retrospective clinical study. *Clin Exp Dermatol* 14 : 429-433, 1989.
- Enerback L, Mellblom L : Growth related changes in the content of heparin and 5-hydroxytryptamine of mast cells. *Cell Tissue Res* 187 : 367-378, 1978.
- Franzen L, Norrby K : Local mitogenic effect of tissue mast cell secretion. *Cell Tissue Res* 13 : 635-642, 1980.
- Hardy ME : The secret life of the hair follicle. *Trends Genet* 8 : 55-61, 1992.
- Hsu SM, Raine L, Fanger H : Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 29 : 577-580, 1981.
- Karalis K, Sano H, Redwine J, Listwak S, Wilder RL, Chrousos GP : Autocrine or paracrine inflammatory actions of corticotropin-releasing hormone *in vivo*. *Science* 254 : 421-423, 1991.
- Khoury EL, Price VH, Greenspan JS : HLA-DR expression by hair follicle keratinocytes in alopecia areata: evidence that it is secondary to the lymphoid infiltration. *J Invest Dermatol* 90 : 193-200, 1988.
- Kohchiyama A, Hatamochi A, Ueki H : Increased numbers of OKT-6-positive dendritic cells in the hair follicles of patients with alopecia areata. *Dermatologica* 171 : 327-331, 1985.
- Jaworsky CB, Kligman AM, Murphy GF : Keratinization of inflammatory infiltrates in male pattern alopecia: Implications for pathogenity. *Br J Dermatol* 127 : 239-246, 1992.
- Link RE, Paus R, Stenn KS, Kuklinska E, Moellmann G : Epithelial growth by rat vibrissae follicles in vitro requires mesenchymal contact via native extracellular matrix. *J Invest Dermatol* 94 : 202-207, 1990.
- Lovenberg TW, Chalmers DT, Liu C, De Souza EB : CRF_{2α} and CRF_{2β} receptor mRNAs are differentially distributed between the rat central nervous system and peripheral tissues. *Endocrinology* 136 : 4139-4142, 1995.
- Mikhail GB, Miller-Milinska A : Mast cell population in human skin. *J Invest Dermatol* 43 : 249-254, 1964.
- Moretti G, Cipriani C, Rebora A, Rampini E, Crovato F : Correlation of tissue mucopolysaccharides with the hair cycle. *J Invest Dermatol* 48 : 498-503, 1967.
- Moretti G, Ranabou EM, Rebora A : The hair cycle re-evaluated. *Int J Dermatol* 15 : 277-281, 1976.
- Norrby K, Enerback L, Franzen L : Mast cell activation and tissue cell proliferation. *Cell Tissue Res* 170 : 289-303, 1976.
- Paul WE, Seder RA, Plaut M : Lymphokine and cytokine production by Fc-epsilon RI+ cells. *Adv Immunol* 53 : 1-29, 1993.
- Paus R, Bottge JA, Henz BM, Maurer M : Hair growth control by immunosuppression. *Arch Dermatol Res* 288 : 408-410, 1996.
- Paus R, Handjiski B, Czarnetzki BM, Eichmuller S : A murine model for inducing and manipulating hair follicle regression (catagen): effects of dexamethasone and cyclosporin A. *J Invest Dermatol* 103 : 143-147, 1994a.
- Paus R, Heinzelmann T, Robicsek S, Czarnetzki BM, Maurer M : Substance P stimulates Murine epidermal keratinocyte proliferation and dermal mast cell degranulation *in situ*. *Arch Dermatol Res* 287 : 500-502, 1995.
- Paus R. and Link RE. The psoriatic epidermal lesion and anagen hair growth may share the same "switch-on" mechanism. *Yale J Biol Med* 61 : 467-476, 1989.
- Paus R, Maurer M, Slominskik A, Czarnetzki MB : Mast cell involvement in murine hair growth. *Dev Biol* 163 : 230-240, 1994b.
- Paus R, Stenn KS, Elgjo K : The epidermal pentapeptid,

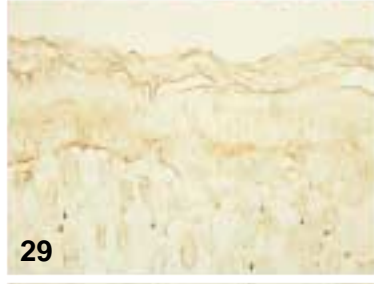
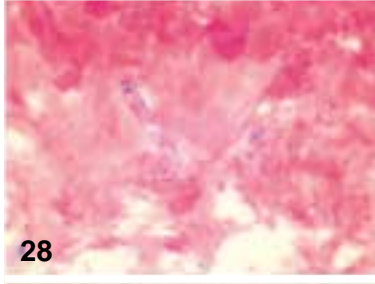
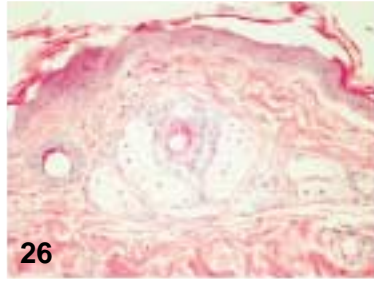
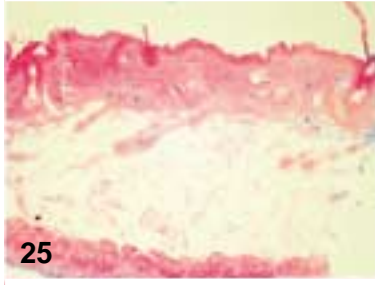
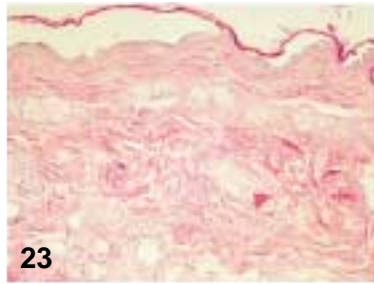
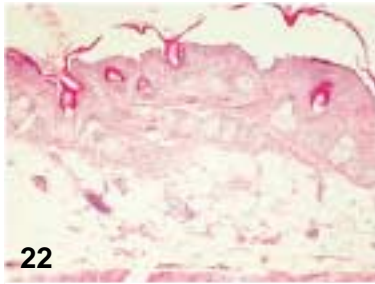
- pyroGlu-Glu-Asp-Ser-GlyOH, inhibits murine hair growth in vivo and in vitro. *Dermatologica* 183 : 173-178, 1991.
- Paus R, Stenn KS, Link R : The induction of anagen hair follicle growth in telogen mouse skin by Cyclosporin A administration. *Lab Invest* 60 : 365-369, 1989.
- Sato S : Ultrastructural study of alopecia areata. In: Toda K, Ishibashi Y, Hori Y, Morikawa F (eds.). *Biology and Disease of the Hair*. University of Tokyo Press, Tokyo, pp. 295-304, 1976.
- Schwartz LB : Mast cell and basophils and their mediators. In "Clinical Aspects of Immunology", Blackwell, Boston, pp. 549-593, 1993.
- Singh LK, Pang X, Alexacos N, Letourneau R, Theoharides TC : Acute immobilization stress triggers skin mast cell degranulation via corticotropin releasing hormone, neurotensin and substance P: A link to neurogenic skin disorders. *Brain Behav Immun* 13 : 225-239, 1992.
- Shortman K, Backson H : The differentiation of T lymphocytes. I. Proliferation kinetics and interrelationships of subpopulations of mouse thymus cells. *Cell Immunol* 12 : 230-246, 1974.
- Slominski A, Paus R, Constantino R : Differential expression and activity of melanogenesis-related proteins during induced hair growth in mice. *J Invest Dermatol* 96 : 172-179, 1991.
- Stenn KS, Paus R, Dutton T, Sarba B : Glucocorticoid effect on hair growth initiation: A reconsideration. *Skin Pharmacol* 6 : 125-134, 1993.
- Stern P, Misirlija A : Die Bedeutung des Hauthistamins für den Haarwuchs bei Ratten und Meerschweinchen. *Int Arch Allergy* 12 : 334-339, 1958.
- Sternberg EM, Chrousos GP, Wilder RL, Gold PW : The stress response and the regulation of inflammatory disease. *Ann Intern Med* 117 : 854-866, 1992.
- Tausk F, Christian E, Johansson O, Milgram S : Neurobiology of the skin. In Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Freedberg IM, Austen KF eds. *Dermatology in General Medicine*, New York, McGraw-Hill, 1993.
- Taylor M, Ashcroft AT, Messenger AG : Cyclosporin A prolongs human hair growth in vitro. *J Invest Dermatol* 100 : 237-239, 1993.
- Van Moffaert M : Psychodermatology : An overview: *Psychother Psychosom* 58 : 125-136, 1992.
- Wallengren J, Ekman R, Moller H : Substance P and vasoactive intestinal peptide in bullous and inflammatory skin disease. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 66 : 23-28, 1986.
- Williams K, Bienenstock J, Perdue MH : The role of psychological and neurological factors in allergic reactions. *ACI News* 4 : 77-85, 1992.

Legends for Figures

- Fig. 7.** Skin mast cells stained by toluidine blue in alopecia areata of C57BL/6N mice (21 day). Numerous mast cell are observed in dermis. × 100.
- Fig. 8.** Skin mast cells stained by alcian blue in alopecia areata of C57BL/6N mice (21 day). Degranulated mast cells are observed in dermis. × 200.
- Fig. 9.** Skin mast cells stained by toluidine blue in normal area of C57BL/6N mice (21 day). × 200.
- Fig. 10.** Skin mast cells stained by alcian blue in normal area of C57BL/6N mice (21 day). × 200.
- Fig. 11.** Subatance P immunoreactive fibers are weakly stained in dermis during postnatal growth period (8 day) of C57BL/6N mice. × 100.
- Fig. 12.** Subatance P immunoreactive fibers are heavily stained in dermis during postnatal growth period (35 day) of C57BL/6N mice. × 100.
- Fig. 13.** CGRP immunoreactive fibers are weakly stained in dermis during postnatal growth period (8 day) of C57BL/6N mice. × 100.
- Fig. 14.** CGRP immunoreactive fibers are heavily stained in dermis during postnatal growth period (35 day) of C57BL/6N mice. × 100.
- Fig. 15.** CRF immunoreactive fibers are weakly stained in dermis during postnatal growth period (8 day) of C57BL/6N mice. × 100.
- Fig. 16.** CRF immunoreactive fibers are heavily stained in dermis during postnatal growth period (35 day) of C57BL/6N mice. × 100.
- Fig. 17.** CRF-R immunoreactive fibers are weakly stained in dermis during postnatal growth period (8 day) of C57BL/6N mice. × 100.
- Fig. 18.** CRF-R immunoreactive fibers are heavily stained in dermis during postnatal growth period (35 day) of C57BL/6N mice. × 100.
- Fig. 19.** CRF-BP immunoreactive fibers are weakly stained in dermis during postnatal growth period (8 day) of C57BL/6N mice. × 100.
- Fig. 20.** CRF-BP immunoreactive fibers are heavily stained in dermis during postnatal growth period (35 day) of C57BL/6N mice. × 100.
- Fig. 21.** Histological skin structure stained by H&E during postnatal growth period (3 day) of hairless mice. Numerous hair follicles are developed. × 100.
- Fig. 22.** Histological skin structure stained by H&E during postnatal growth period (21 day) of hairless mice. Degenerating hair follicles and developed sebaceous glands are observed. × 100.
- Fig. 23.** Histological skin structure stained by H&E during postnatal growth period (56 day) of hairless mice. Degenerating hair follicles, developed sebaceous glands and developed collagen fibers of dermis are observed. × 100.
- Fig. 24.** Skin mast cells stained by toluidine blue during postnatal growth period (21 day) of hairless mice. Numerous mast cell are observed in dermis. × 100.
- Fig. 25.** Skin mast cells stained by alcian blue during postnatal growth period (21 day) of hairless mice. Numerous degranulated mast cell are observed in dermis. × 100.
- Fig. 26.** Histological skin structure stained by H&E during postnatal growth period (56 day) of hairless mice. Developed sebaceous glands and heavily stained collagen fibers are observed. × 200.
- Fig. 27.** Skin mast cells stained by toluidine blue during postnatal growth period (56 day) of hairless mice. Numerous mast cell are observed in dermis. × 200.
- Fig. 28.** Skin mast cells stained by alcian blue during postnatal growth period (56 day) of hairless mice. Numerous degranulated mast cell are observed in dermis. × 200.
- Fig. 29.** Subatance P immunoreactive fibers are weakly stained in dermis during postnatal growth period (3 day) of hairless mice. × 100.
- Fig. 30.** Subatance P immunoreactive fibers are mildly stained in dermis during postnatal growth period (21 day) of hairless mice. × 100.
- Fig. 31.** Subatance P immunoreactive fibers are heavily stained in dermis during postnatal growth period (56 day) of hairless mice. × 100.
- Fig. 32.** CGRP immunoreactive fibers are weakly stained in dermis during postnatal growth period (3 day) of hairless mice. × 100.
- Fig. 33.** CGRP immunoreactive fibers are mildly stained in dermis during postnatal growth period (21 day) of hairless mice. × 100.
- Fig. 34.** CGRP immunoreactive fibers are heavily stained in dermis during postnatal growth period (56 day) of hairless mice. × 100.
- Fig. 35.** CRF immunoreactive fibers are mildly stained in dermis during postnatal growth period (3 day) of hairless mice. × 100.
- Fig. 36.** CRF immunoreactive fibers are heavily stained in dermis during postnatal growth period (56 day) of hairless mice. × 100.

— 탈모생쥐 모델에서 털성장과 탈모 관련 인자 —





Abstract

The Studies on the Factors Related to Normal Hair Growth During Postnatal Growth Periods in C57BL/6N, Hairless and Alopecia Areata Mice Model

Moon-Won Lee, Chan-Ho Oh¹, Jin Kwon, Chang-Ho Song², Chang-Hyun Lee

Department of Anatomy, College of Oriental Medicine,

¹Department of medicinal biotechnology, Woosuk University,

²Department of Anatomy, Chonbuk National University Medical School

We have examined the factors related to hair growth regulation during postnatal growth periods in C57BL/6N, hairless and alopecia areata mice model. We first studied the number, localization and granulation status of skin mast cells during postnatal growth periods by toluidine blue, alcian blue and H&E staining methods. We second studied immunoreactive density of neuropeptide (substance P, CGRP, CRF, CRF-receptor, CRF-binding protein) in skin by immunohistochemical methods. We third studied changes of subpopulation of splenocytes and thymocytes during postnatal growth periods in C57BL/6N, hairless and alopecia areata mice model by flow cytometry.

The results were as follows : In C57BL/6N mice, the number of mast cells was decreased from 1 day to 35 day during postnatal growth period. But skin of alopecia areata model mice in 21 day, the number of mast cells was more increased than that of normal skin. Immunoreactive density of neuropeptide (Substance P, CGRP, CRF, CRF-receptor, CRF-binding Protein) in skin during postnatal growth periods in C57BL/6N mice was weakly stained in 1, 3, 8 day, but immunoreactive density of neuropeptide was heavily stained in 35day and 21 day (no pigment). Splenic B and T lymphocytes were gradually increased with growth, and significantly increased in 29 days-old (hairless, pigment group) than 21 days-old (hairless, no pigment group) C57BL/6N mice. Especially, CD4 positive Th cells in splenic T lymphocytes were markedly increased. But thymic T lymphocytes were not shown any differences.

In hairless mice, the number of mast cells was not changed from 3 day to 7 day, but more increased from 13day to 21day. Immunoreactive density of neuropeptide (substance P, CGRP, CRF) in skin during postnatal growth periods in hairless mice was weakly stained in 3, 7 and 13 day. but immunoreactive density of neuropeptide was heavily stained from 17 to 56 day. Splenic B and T lymphocytes were most highly increased in 13 days-old genetically hairless mice. And CD4 positive Th cells and CD8 positive Tc cells in splenic T lymphocytes were significantly increased. And also thymic Th lymphocytes were increased in 13 days-old and 17 days-old hairless mice.

These experiment suggest that the factors related to hair loss were mast cells, immunoreactive density of neuropeptide (substance P, CGRP, CRF) and immune response during postnatal growth periods in C57BL/6N, hairless and alopecia areata mice model.

Key words : Hair loss, Mast cells, Substance P, CGRP, CRF, CD4, CD8