

발 간 등 록 번 호

안내서-1210-01

국민 안심이 기준입니다

# 건강기능식품 기능성 평가 가이드 (민원인 안내서)

-모발건강 관련-

2022. 7.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

## 지침서 · 안내서 제 · 개정 점검표

명칭	건강기능식품 기능성 평가 가이드 (모발건강 관련)	
아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.		
등록대상 여부	<input type="checkbox"/> 이미 등록된 지침서 · 안내서 중 동일 · 유사한 내용의 지침서 · 안내서가 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input checked="" type="checkbox"/> 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 기존의 지침서 · 안내서의 개정을 우선적으로 고려하시기 바랍니다. 그럼에도 불구하고 동 지침서 · 안내서의 제정이 필요한 경우 그 사유를 아래에 기재해 주시기 바랍니다. (사유 : )	
	<input type="checkbox"/> 법령(법 · 시행령 · 시행규칙) 또는 행정규칙(고시 · 훈령 · 예규)의 내용을 단순 편집 또는 나열한 것입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 단순한 사실을 대외적으로 알리는 공고의 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 1년 이내 한시적 적용 또는 일회성 지시 · 명령에 해당하는 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 외국 규정을 번역하거나 설명하는 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input checked="" type="checkbox"/> 상기 사항 중 어느 하나라도 '예'에 해당되는 경우에 지침서 · 안내서 등록 대상이 아닙니다. 지침서 · 안내서 제 · 개정 절차를 적용하실 필요는 없습니다.	
지침서 · 안내서 구분	<input type="checkbox"/> 내부적으로 행정사무의 통일을 기하기 위하여 반복적으로 행정사무의 세부기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용)	<input type="checkbox"/> 예( <input checked="" type="checkbox"/> 지침서) <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 대내외적으로 법령 또는 고시 · 훈령 · 예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것입니까? (민원인용)	<input checked="" type="checkbox"/> 예( <input checked="" type="checkbox"/> 지침서) <input type="checkbox"/> 아니오
기타 확인 사항	<input type="checkbox"/> 상위 법령을 일탈하여 새로운 규제를 신설 · 강화하거나 민원인을 구속하는 내용이 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input checked="" type="checkbox"/> 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 상위법령 일탈 내용을 삭제하시고 지침서 · 안내서 제 · 개정 절차를 진행하시기 바랍니다.	
상기 사항에 대하여 확인하였음.		
2022년 7 월 일		
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <span>담당자 확 인(부서장)</span> <span>이 해 영</span> </div>		

이 안내서는 건강기능식품 기능성 원료 평가에 대하여 이해를 돕고자, 현재의 과학기술 수준에서 일반적인 사항과 시험방법 등이 제시된 참고자료이며, 질병에 관련된 내용이 포함되는 경우 기능성에 대한 전반적인 이해를 돕기 위한 것이지, 질병의 치료 및 예방을 목적으로 기능성을 설명하는 것은 아닙니다.

본 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술방식 (‘~하여야 한다’ 등)에도 불구하고 민원인 여러분께서 반드시 준수하셔야 하는 사항이 아님을 알려드립니다. 또한, 본 안내서는 2022년 현재의 과학적·기술적 사실 및 유효한 법규를 토대로 작성되었으므로 이후 최신 개정 법규 내용 및 구체적인 사실관계 등에 따라 달리 적용될 수 있음을 알려드립니다.

※ “민원인 안내서”란 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것(식품의약품 안전처 지침서등의 관리에 관한 규정 제2조)

※ 본 안내서에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전평가원 식품위해 평가부 영양기능연구과으로 문의하시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-4402, 4409, 4416, 4417, 4419, 4422, 4428, 4429

팩스번호: 043-719-4420

### 제·개정 이력

연번	제·개정번호	승인일자	주요내용
1	안내서-1210-01	2022.7.	제정





※ 건강기능식품의 기능성 개요 .....	1
------------------------	---

※ 약어 .....	3
------------	---

<b>I</b> 서론	4
-------------	---

<b>II</b> 일반적 사항	4
------------------	---

1. 모발의 구조 .....	4
2. 모발의 성장주기 .....	7
3. 모발의 노화 .....	9

<b>III</b> 기능성 시험 방법	12
----------------------	----

1. 바이오마커의 선정 .....	12
2. 주요 바이오마커의 측정 방법 .....	17
3. 시험 설계 시 고려사항 .....	26

<b>IV</b> 참고문헌	34
----------------	----



## 건강기능식품의 기능성 개요

### □ 기능성 정의

건강기능식품법 제3조(정의) : 기능성이란 인체의 구조와 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 것을 말한다.

### □ 기능성 구분

건강기능식품의 기능성은 3가지로 구분할 수 있다.

#### ○ 건강기능식품의 기능성 구분

기능성 구분	기능성 내용	기능성을 가진 원료 또는 성분
영양소 기능	인체의 정상적인 기능이나 생물학적 활동에 대한 영양소의 생리학적 작용	영양소
생리활성 기능	인체의 정상기능이나 생물학적 활동에 특별한 효과가 있어 건강상의 기여나 기능 향상 또는 건강유지·개선을 나타내는 기능	기능성 원료
질병발생 위험감소 기능	질병의 발생 또는 건강상태의 위험감소와 관련한 기능	

## □ 건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준

건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준은 다음과 같다.

### ○ 건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준

구분	기능성 내용	인정기준
질병발생 위험 감소 기능 <sup>1)</sup>	○○발생위험 감소에 도움을 줌	기반연구 자료를 통해 생리화학적 효과 또는 기전이 명확하게 입증되어야 하고 일관성 있는 바이오마커의 개선효과가 다수의 인체적용시험(RCT)에서 확보 되어야 함 ※ 질병 관련 바이오마커의 확인
생리활성 기능 <sup>2)</sup>	○○에 도움을 줄 수 있음	기반연구 자료를 통해 기능성 있는 생리화학적 효과 또는 기전을 추측할 수 있어야 하고 일관성 있는 바이오마커의 개선효과가 최소 1건 이상의 인체적용시험(RCT)에서 확보되어야 함(추측 제안기전과 관련한 바이오마커가 기반연구시험과 인체적용시험에서 일관성 있게 확인 되어야 함) ※ 생리활성 관련 바이오마커의 확인

- 1) 제출된 기능성 자료가 질병의 발생 위험 감소를 나타내며, 확보된 과학적 근거 자료의 수준이 상당한 과학적 합의(Significant Scientific Agreement)에 이를 수 있을 정도로 높을 경우 인정. 상당한 과학적 합의(Significant Scientific Agreement)란 성분 또는 원료와 건강효과 간의 상관성이 새로운 과학에 의해 뒤집어지지 않을 정도의 수준으로 관련 분야의 전문가들에 의한 만장일치에 가까운 합의 수준을 말함
- 2) 제출된 기능성 자료가 인체의 정상기능이나 생물학적 활동에 특별한 효과가 있어 건강상의 기여나 기능향상 또는 건강유지·개선을 나타내는 경우 인정

## 약 어

5 $\alpha$ RI	5 $\alpha$ -reductase inhibitor
BASP	Basic and specific classification
BMP	Bone morphogenetic protein
BrdU	Bromodeoxyuridine
DHT	dihydrotestosterone
DKK-1	Dickkopf-related protein 1
DMEM	Dulbecco's modified eagle medium
FBS	Fetal bovine serum
$\gamma$ -GT	$\gamma$ -Glutamyltranspeptidase
hDPCs	human dermal papilla cells
HHDPc	Human hair dermal papilla cell
HGF	Hepatocyte growth factor
IGF-1	Insulin-like growth factor-1
IL	Interleukin
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, a tetrazole
ORS	Outer root sheath
RCT	Randomized controlled trial
SOD	Superoxide dismutase
Shh	Sonic hedgehog
TGF- $\beta$ 1	Transforming growth factor- $\beta$ 1
VEGF	Vascular endothelial growth factor
WST-1	Water-soluble tetrazolium salt

## I 서론

이 가이드는 건강기능식품 기능성원료를 개발하는 연구자 및 영업자에게 식품의약품 안전처의 기능성(모발 건강 관련) 평가 원칙 및 기준 등을 알림으로써 산업체의 기능성원료 연구개발에 적정을 기하고 효율성을 높이하고자 작성되었다.

## II 일반적 사항

### 1. 모발의 구조

모발은 크게 모근부와 모간부로 나눌 수 있는데, 그 중 두피 안의 부분을 모근부(모발의 뿌리)라고 하고, 두피 밖으로 나와 우리의 눈에 보이는 부분을 모간부(모발의 큰 줄기)라 한다.

#### (1) 모근부(Hair root)

##### 1) 모낭(Follicle)

모낭은 모발을 만들어 내기 위한 기본단위로 우리 몸에는 약 500만 개 정도가 있다. 그 중 100만 개는 얼굴과 두피에 있으며, 이들 중에서 10~15만 개가 모발에 있다. 모낭은 표피가 피하조직까지 움푹 들어가 있고, 관모양을 하고 있으며 자루 역할을 한다. 그리고 모낭의 아래는 부풀어 있고 모근부를 감싸고 있다. 모낭의 생성 기간은 2~5개월이며, 모낭 생성 후에 머리카락이 생성된다. 각화가 완전하게 이루어질 때까지 모발을 보호하고 표피까지 운반하며 모구 부근에서 세포분열에 의해 만들어지고 모발의 성장과 함께 위로 밀려 올라간 다음 각질이 되어 두피에서 떨어져 간다.

##### 2) 모기질세포(모모세포, Keratinocyte)

모구의 오목한 부분에 있는 모유두와 접한 세포로 모유두로부터 영양을 공급받아 끊임없이 분열, 증식을 되풀이한다. 모발의 주성분인 케라틴 단백질을 만들어 모발의 형상을 갖추게 한다.

### 3) 모구(Hair bulb)

모발이 생성되고 성장하는 장소로 모근의 아래쪽에서 전구 모양의 볼록한 형태로 있다. 머리털을 강제로 뽑을 때 희고 끈끈한 것이 달려 나오는데 이것이 바로 모구이다.

### 4) 모유두(Dermal Papilla)

모유두는 진피세포층으로부터 나와 모낭의 아래에 있으며 젖꼭지 모양을 하고 있다. 모세혈관과 자율신경이 많이 분포하고 있고 각종 영양소와 단백질 합성효소, 호르몬, 산소가 공급된다. 모유두의 활동이 왕성하면 모발이 건강하고 탈모가 적게 된다.

### 5) 피지선 Sebaceous gland

하루에 1~2g의 피지를 생산하여 모발을 보호하고 두피의 수분을 유지하게 한다. 피지분비는 남성 호르몬의 영향과 당분, 지방 섭취가 많으면 증가한다. 또 기온이 높아져도 증가한다. 피지분비가 너무 많거나 적어도 탈모를 일으킨다.

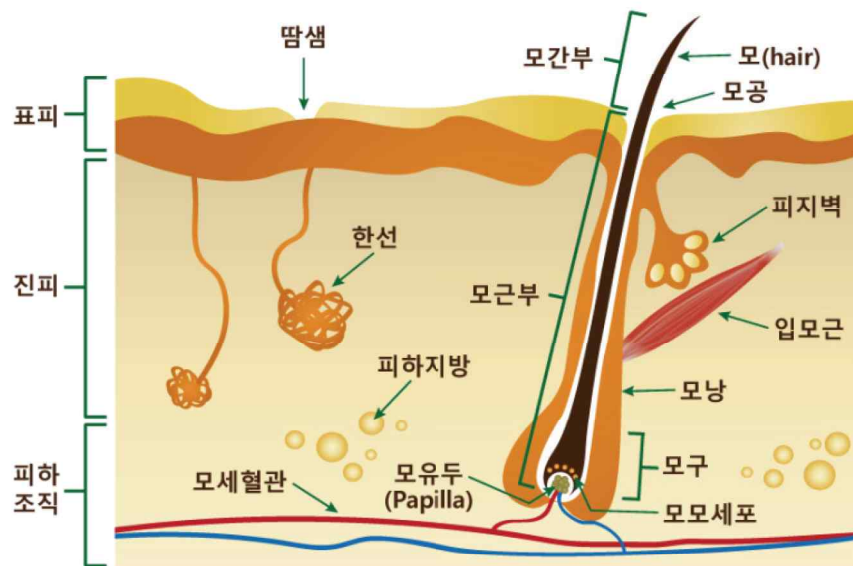


그림1. 모발의 구조

[출처: Kevin S et al, The Scientific World Journal, 2013]



## (2) 모간부(Hair shaft)

모간부는 모발의 가장 안쪽 부분인 모수질, 모수질을 감싸고 있는 모피질, 가장 바깥 부위인 모표피로 구성된다.

### 1) 모표피(Cuticle)

모발의 가장 바깥층으로 경단백질로 되어 있고 모발의 10~15%를 차지하며 모표피가 많을수록 모발은 단단하고 투명하며, 습윤성을 갖게 되고 광택이 나고, 마찰에 대한 강도도 높아진다. 모표피가 화학적, 물리적, 환경적인 원인에 의해 손상, 박리, 탈락하게 되면 모피질에 손상을 주고 결국 머리카락이 손상된다.

### 2) 모피질(Cortex)

모피질은 피질세포와 세포간 결합물질로 구성되어 있다. 모피질은 모수질과 모표피 사이에 섬유모양으로 되어 있고, 모발의 80~90%를 차지한다. 멜라닌을 함유하고 있으며 모발의 강도, 탄력, 질감, 색상을 좌우하며 모발의 성질을 나타내는 가장 중요한 부분이다.

### 3) 모수질(Medulla)

모수질은 모발의 중심부에 존재한다. 내부에 비어 있는 공간이 있어 공기가 들어 있다. 연모에는 존재하지 않으며, 굵은 모발에만 존재한다.

## (3) 모발의 성분

모발 대부분의 주요성분은 케라틴(Keratin)이라는 단백질이다. 케라틴은 물리, 화학적으로 강한 것이 특징으로 보통의 단백질과는 달리 부패되지 않고, 여러 가지 화학약품에 대하여 저항력이 있으며 물리적인 강도와 탄력이 크다. 그 외에도 모발은 멜라닌, 지질, 수분, 미량원소로 구성되어 있다.

## 2. 모발의 성장주기(hair cycle)

모발은 시간이 지남에 따라 성장기(Anagen: growing stage), 쇠퇴기(Catagen: degenerating stage), 휴지기(Telogen: resting stage), 탈생기(Early Anagen) 등의 독특한 주기를 지니는데, 이를 모발의 성장주기라 한다.

모발의 성장주기에 있어, 성장기는 2~8년 동안 계속되며, 각 부위에 따라 기간이 다르다. 그 후 1~2개월의 쇠퇴기를 거쳐, 2~4달 정도의 휴지기에 들어가는데, 이러한 반복은 오래된 모발을 이탈시키고 새로운 모발을 생장시킨다. 일반적으로 정상인에 있어 성장기 모와 쇠퇴기, 휴지기 모의 비율이 90:10으로 비동시성을 지닌다. 모발의 주기는 10~15회 반복하므로 이 주기가 일찍 끝나는 사람은 탈모가 된다. 또한, 휴지기 모발이 20% 이상 되면 머리카락이 빠지는 상태라 할 수 있는데 평균 하루 50~100개 정도의 머리카락이 빠지는 때를 말한다.

### (1) 성장기(Anagen stage)

성장기의 수명은 2~8년이며 전체 모발의 80~90%를 차지하고 이 단계에서 모발은 한 달에 1~1.5cm 정도 자란다. 모유두와 접촉하는 모구의 하반부에서는 모모세포의 분열이 지속적으로 일어나 머리카락이 생성된다. 이렇게 만들어진 모발은 각화 현상으로 모간 밖으로 올라가게 되고 내모근초와 외모근초는 모발의 성장과 발육을 돕고 보호하는 역할을 한다.

### (2) 쇠퇴기(Catagen stage)

쇠퇴기는 성장기가 끝나고 모발의 생성이 점점 느려져 결국은 성장이 멈추는 시기이다. 이때는 모발의 생성과 발육이 멈추는 휴지기로 넘어가는 시기로 모발의 뿌리에도 변화가 오게 된다. 쇠퇴기는 1~2개월 동안 지속하다가 휴지기로 진행되며 전체 모발의 1%를 차지한다. 이 단계에서는 모모세포와 색소세포의 활동이 멈추면서 케라틴을 만들어 내지 않고 모발의 성장이 중단된다. 또한, 뿌리 하부의 모낭이 주름이 잡히고 뿌리 전체의 길이가 약 1/3로 줄어든다.

### (3) 휴지기(Telogen stage)

쇠퇴기를 거쳐 모발 성장의 마지막 단계인 휴지기에 이르면 성장은 멈추고 모낭과 모유두는 완전히 분리되며 모낭은 위축되어 더욱더 위쪽으로 올라가 모발이 빠지게 된다. 휴지기 단계의 수명은 2~4개월 동안 지속되고 전체 모발의 10% 정도를 차지한다. 성장이 완전히 정지되어 모구의 기저부는 위축되어도 모발이 즉시 빠지는 것이 아니며, 한동안은 두피에 머물러 있다가 강한 빗질 등의 마찰에 의해 쉽게 빠진다.

### (4) 발생기(Early Anagen)

휴지가 끝나면 휴식을 취한 모유두는 활동이 활발해지면서 다시 새로운 모발을 모유두가 만들기 시작하는데 이 시기가 발생기이다. 신생 모발이 성장하게 되고 모구부와 결합하여 세포 분열은 왕성해지면서 휴지기에 머물고 있던 모발은 밀려서 완전히 두피 밖으로 빠지게 된다.

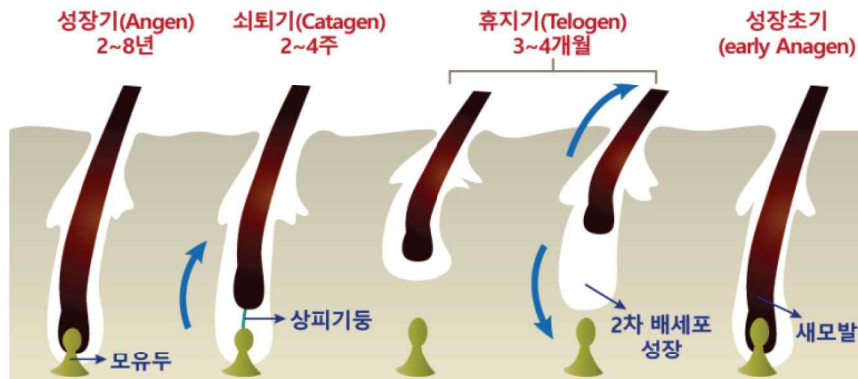


그림2. 모발의 성장주기

[출처: Park et al, Facial Plast Surg Clin North Am, 2018]

### 3. 모발의 노화

생리적 노화는 연령이 증가함에 따라 인체에 나타나는 다양한 형태의 변화로서 피부노화와 모발 두께 감소, 탄력 저하, 푸석거림, 백모, 탈모 등을 유발하는 것으로 알려져 있다.

#### (1) 내인성 노화 (Intrinsic aging)

세포 성장과 시간 경과에 따라 자연적으로 진행되는 노화현상으로 인위적으로 절대 거스를 수 없는 상태로서 성별, 유전, 질병 유무 등에 따라 영향을 받는다. 내인성 노화가 진행된 머리카락은 내부 성분 단백질과 지질량의 감소로 인해 탄력 및 경도, 부드러움이 감소한다.

#### (2) 외인성 노화 (Extrinsic aging)

외인성 노화는 개개인의 환경, 직업, 취미, 습관에 따라 크게 좌우된다. 머리카락은 유연하면서도 강한 빗줄 구조의 케라틴 단백질로 이루어진 큐티클 층으로 둘러 쌓여있다. 특히 케라틴 단백질 사이에 가교 결합되어 있는 이황화결합은 머리카락의 강도를 결정하는데 중요한 역할을 하는데, 염색 및 펌 처리에 의해 외부에서 투입되는 산화제 또는 열은 케라틴 단백질 사이의 황의 가교 결합을 손상시키고 모발 내부 결합이 약화되는 구조 변화를 일으킴으로써 머리카락 강도를 낮춘다.

#### (3) 산화적 스트레스 (Oxidative Stress)

산화적 스트레스는 멜라닌 합성시(Melanogenesis)에 멜라닌세포의 핵과 미토콘드리아 DNA에 mutation을 초래하여 백모(Canities)와 탈모가 나타난다고 보고되었다. 특히 성장기의 모발에서 멜라닌 합성 과정 중에 과도한 산화적 스트레스는 모낭에 세포사를 일으킴으로써 탈모가 유발되고, 심한 다이어트는 모발 영양의 불균형을 초래하며, 탈모의 원인과 모발이 푸석해지고 모발의 굵기가 얇아지며, 인장강도가 감소하는 등의 변성과 손상을 유발한다.



#### (4) 모발의 노화에 따른 변화

나이가 들어감에 따라 피부에 주름이 늘고 색소 침착이 심해지는 것과 마찬가지로 모발 또한 많은 변화를 보인다.

##### 1) 색깔

가장 쉽게 변화를 감지할 수 있는 부분은 머리카락 색깔이다. 흰 머리가 늘어나는 현상이다. 노화가 진행되면 체내에 과산화수소 분비량이 증가하게 되는데 이 물질이 머리카락의 색소세포를 파괴한다. 이로 인해 머리가 하얗게 세는 것이다.

##### 2) 머리카락 손실

유전적 영향에 의해 정도 차는 있지만 일정 연령에 도달하면 누구나 머리카락 개수가 줄어들게 된다. 과학자들에 따르면 40세가 노화로 인한 머리카락 손실이 시작되는 시기다.

##### 3) 강도 및 탄력

나이가 들면 머리카락 표면을 보호하는 큐티클을 형성하는 세포의 기능이 떨어지게 된다. 케라틴 단백질의 수치가 떨어지면서 머리카락이 가늘어지고 탄력이 떨어지게 된다. 머리카락을 잡아당겼다 놓았을 때 스프링처럼 원래 자리로 되돌아가기보다 끊어져 버리는 현상이 나타난다면 머리카락의 강도와 탄력이 많이 떨어진 상태다.

##### 4) 두께(지름)

40세는 많은 신체적 변화를 경험하는 나이다. 머리카락 손실은 물론 머리카락 두께가 얇아지는 것도 이 시기다.

##### 5) 성장 속도

머리카락의 성장 속도도 중년에 접어들면서 느려지기 시작한다. 성장기는 짧아지고 휴지기가 길어진다는 의미다.

##### 6) 윤기 및 질감

머리카락에 있는 지방산과 케라틴 단백질이 줄어들면서 푸석푸석하고 거칠어지게 되어, 윤기가 떨어지는 모발로 변하게 된다.

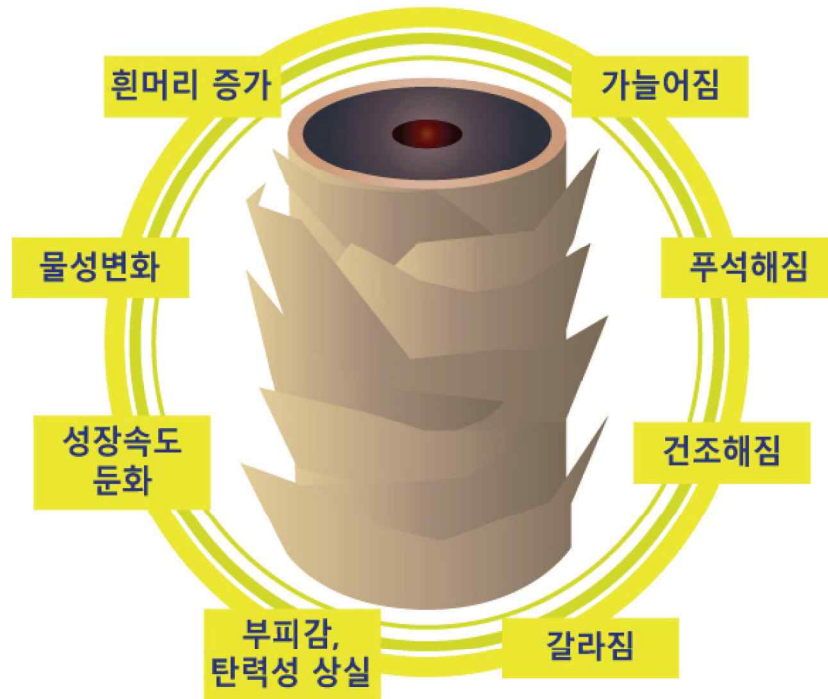


그림3. 모발 노화의 신호

[출처: Bhogal RK et al, Skimmed, 2016]

### III 기능성 시험 방법

#### 1. 바이오마커의 선정

##### 가. 연구유형별 바이오마커

모발 건강 상태 유지의 기능성을 확인하기 위한 측정 가능한 시험 연구유형별 바이오마커(biomarker)는 다음과 같다. 각 바이오마커는 모발 건강상태 유지와 관련된 기전을 확인할 수 있는 바이오마커와 임상적 평가를 위한 바이오마커로 구분된다. 모발 임상 사진 평가\*와 단위면적당 총 모발 수의 변화\*는 시험군과 대조군을 비교하여 기존 모발이 유의적으로 덜 감소하는 등의 기능성을 보조적으로 입증할 수 있는 지표로 사용할 수 있다.

구분	바이오마커	측정 가능한 연구유형		
		in vitro	in vivo	Human
영양공급 촉진	모발 아미노산(cystine, methionine 등) 조성		○	○
항산화	항산화 효소 활성(SOD, CAT, GPx 등)	○	○	
항염	IL-1, TNF- $\alpha$ , Prostaglandins 등	○	○	○
세포증식	모유두 세포 또는 외모근초 세포의 증식 촉진 효과	○		
모낭 주기 조절	모발 성장자극인자(IGF-1, HGF, VEGF, EGF 등)	○	○	
	모발 성장저해인자(TGF- $\beta$ 1, BMP, DKK-1 등)	○	○	
	성장기 모발 비율		○	○
임상적 평가	모발 탄력 변화		○	○
	모발 윤기 변화		○	○
	모발 직경 변화		○	○
	대상자 만족도			○
	모발 임상 사진 평가*			○
	단위면적당 총 모발 수의 변화*		○	○

## 나. 바이오마커 설명

모발건강 유지 관련 바이오마커는 영양공급, 항산화, 항염, 세포증식 촉진, 모낭주기 조절, 임상적 증상 관련 바이오마커로 구분되어 있다.

### (1) 영양공급 촉진

모발 영양의 불균형은 모발이 푸석해지고 모발의 굵기가 얇아지며, 인장강도가 감소하는 등의 모발 손상을 유발한다. 모발 필수 영양성분들이 충분히 혈액을 통해 모근에 공급된다면 머리카락이 굵어지고 덜 빠지는 효과를 볼 수 있다.

#### 1) 모발 아미노산(cystine, methionine 등) 조성

모발은 손톱, 발톱 등과 같이 케라틴 단백질로 이루어져 있는데, 시스틴이 15.3%로 가장 많은 부분을 차지하고 있으며 글루탐산 14.9%, 세린 10.2%, 아르기닌 9.2%, 프롤린 7.4% 등 18가지의 아미노산으로 구성되어 있다. 모발은 신체의 영양상태와 매우 밀접한 관련이 있으며, 우리 몸의 상태를 나타내는 지표로 이용될 수 있다. 모발을 가수분해하여 아미노산 조성의 변화를 분석하면 손상모일 경우 특히 시스틴의 함유량이 감소하고 시스테인이 증가하게 된다.

### (2) 항산화

산화적 스트레스는 모낭에 세포사를 일으킴으로써 탈모를 유도할 수 있고, 모발이 푸석해지고 모발의 굵기가 얇아지며, 인장강도가 감소하는 등의 변성과 손상을 유발한다. 항산화 활성은 두피에서의 활성산소의 발생을 억제하고 과잉 발생된 활성산소를 제거하거나 활성을 낮추어 산화적 스트레스를 줄여준다.

#### 1) 항산화 효소 활성(SOD, CAT, GPx 등)

##### ▪ Superoxide dismutase(SOD) 활성:

SOD는  $[2O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2]$ 의 반응을 촉매 하는데, 효과적으로  $O_2^{\bullet-}$ 와  $H_2O_2$ 를 제거하는 것은 생물계에서 활성산소종의 형성을 줄이는데 필수적이다. SOD는  $O_2^{\bullet-}$ 기의  $HO^{\bullet}$ 로의 환원을 촉매함으로써 이러한 반응을 조절한다.



- Catalase(CAT) 활성

Catalase는  $[2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2]$ 의 반응을 촉매함으로써 세포 내에서의  $\text{H}_2\text{O}_2$ 의 축적을 방지하도록 도와준다.

- Glutathione peroxidase(GPx) 활성

GPx는  $[\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{GSH} \rightarrow \text{GSSG} + 2\text{H}_2\text{O}]$ 의 반응을 촉매함으로써 세포 내에서의  $\text{H}_2\text{O}_2$ 의 축적을 방지하도록 도와준다.

### (3) 항염

모낭의 면역체계가 변화하면 면역세포가 모낭을 공격하고 염증을 일으켜 모발이 손상되고 심하면 탈모까지 일으킬 수 있다.

#### 1) IL-1, TNF- $\alpha$ , Prostaglandins 등

염증성 cytokines인 IL-1과 TNF- $\alpha$ , Prostaglandins 등은 모발세포의 세포사를 유발하여 탈모를 일으킨다고 알려져 있다.

### (4) 세포증식 촉진

#### 1) 모유두 세포 증식 촉진 효과

모유두세포 (dermal follicle papilla cells)는 모근의 끝에 위치하고 있는 모유두(dermal papilla)를 구성하는 세포이다. 모유두는 모세혈관과 감각신경에 연결되어 있고 모모세포 (hair mother cell)에 영양을 공급하며 모발의 성장과 퇴화를 조절하는 역할을 하기 때문에 모유두세포는 탈모와 직접적인 연관성이 있다.

#### 2) 외모근초 세포의 증식 촉진 효과

모근부는 모낭으로 둘러싸여 있는데, 모낭은 내모근초와 그 외측의 외모근초로 이루어져 있다. 이들은 모구부에서 발생한 모발이 완전히 각화가 종결될 때까지 보호하고, 표피까지 유반하는 역할을 하고 있다. 이들은 모구부 부근에서 세포분열에 의해 만들어지고 모발의 육성과 함께 위로 밀려 올라간다. 모발을 표피까지 운송하여 역할을 다한 후에는 비듬이 되어 두피에서 떨어진다.

### (5) 모낭주기 조절

모낭은 피부의 구조물 중 신경섬유의 밀도가 가장 높게 분포되어 있다. 신경섬유로부터 유래되는 신경펩타이드는 모발 성장과 발달, 모발 주기에 중요한 역할을 한다. 신경펩타이드는 신경 조직에서 생성되어 표적세포의 수용체와 결합하여 다양한 작용을 하는 물질인데 자율신경계 구성원으로서의 작용과 중추신경계의 뇌 펩타이드로서의 작용, 신경세포와 면역계 사이에서 신호를 전달하며 서로를 조절하고 각각의 세포에 대한 성장 조절인자로도 작용을 한다.

#### 1) 모발 성장자극인자(IGF-1, HGF, VEGF, EGF 등)

모유두 세포는 상피 세포의 분열을 조절하는 능력이 있는데, 이러한 기능은 성장인자에 의해 조절된다고 알려져 있다. 현재까지 모낭에서 발견되는 것으로 보고된 성장인자로는 인슐린유사 성장인자-1(IGF-1, insulin like growth factor-1), 혈관내피 성장인자(VEGF, vascular endothelial growth factor), 간세포성장인자(HGF, hepatocyte growth factor), 표피세포 성장인자(EGF, epidermal growth factor) 등이 있다. 윈트신호전달계(Wnt signaling pathway)는 모발 생장주기 및 모낭 줄기세포 활성화를 통해 모발성장을 유도하는 것으로 알려져 있다. 또 다른 모발 성장 관련 사이토카인으로는 노긴(Noggin), Shh(Sonic hedgehog) 등도 있다.

#### 2) 모발 성장저해인자(TGF- $\beta$ 1, DKK-1, BMP 등)

TGF- $\beta$ 1(Transforming growth factor- $\beta$ 1)은 ORS(외모근초)에서 생성되어 정상적인 모낭의 성장기를 초기에 퇴행기로 촉진하는 역할을 하는 것으로 알려진 인자이며, DKK-1(Dickkopf-1)은 세포 괴사를 촉진하여 탈모를 유발하는 대표적인 negative cytokines 중의 하나이며 남성 호르몬(DHT) 유도물질로서 Wnt/ $\beta$ -catenin 신호 경로의 작용을 억제하여 탈모를 일으키는 것으로 알려져 있다. BMP(Bone morphogenetic protein)는 퇴행기에서 휴지기까지 분비되며 DKK-1의 세포사멸 작용을 활성화하여 모발의 탈락을 지시한다.

#### 3) 성장기 모발 비율

일반적으로 정상인에 있어 성장기 모와 쇠퇴기, 휴지기 모의 비율이 90:10으로 비동시성을 지닌다. 쇠퇴기와 휴지기 모발의 비중이 높아지면 탈모증이 발생한다.

## (6) 임상적 평가

### 1) 모발의 탄력 변화

모발의 탄력이란 모발의 강도를 말하는 것이고 물리학에서 말하는 탄성과는 의미가 다르다. 따라서 모발 진단 시 손으로 만져보면 강한 모발인가 또는 약한 모발인가는 판정할 수 있다. 이 모발의 탄력은 모발을 변형해 웨이브를 만들 경우나 원래의 곱슬머리 등을 교정하는 경우에 저항을 나타내는 것이다. 탄력이 있는 모발은 변형되기 어렵지만 한번 변형되면 그 유지력을 오래 갖게 되며 탄력이 없는 손상모는 웨이브가 잘 걸리지 않고 웨이브를 유지하는 힘도 약하다.

### 2) 모발의 윤기 변화

물리적, 화학적 손상에 의해 모발에 있는 지방산과 케라틴 단백질이 줄어들면서 푸석푸석하고 거칠어지게 되어 윤기가 떨어지는 모발로 변하게 된다.

### 3) 모발의 직경 변화

노화에 의해 머리숱이 줄어들 때, 머리카락이 가늘어지는 것을 느끼는 경우가 많은데 이는 모근의 기능이 저하되어 모발 수명만 줄어드는 것이 아니라, 모발 생성 능력의 저하로 점점 가는 모발을 생성하게 된다.

### 4) 대상자 만족도

모발 건강상태 유지의 기능성을 확인을 확인하기 위해 피험자의 주관적 만족도를 평가한다.

### 5) 모발 임상 사진을 통한 평가

임상시험을 진행하지 않은 전문가 패널을 구성하여 임상사진 및 포토트리코그램을 참고하여 전반적인 임상적 개선을 점수로 평가한다.

### 6) 단위면적 당 총 모발 수의 변화

노화 등 인체 내외적인 변화에 의해 모근이 약해지면, 점차 머리숱이 줄어들게 되어 모발의 감소로 이어진다.

## 2. 주요 바이오마커의 측정 방법

### (1) 영양공급 촉진

#### 1) 모발 아미노산(cystine, methionine 등) 조성

모발 시료 0.01g을 18ml test tube에 칭량하여 6N HCl 10ml를 가해 감압 밀봉(질소가스 충전)한 후, 110℃로 setting된 heating block에 24시간 이상 가수분해 시킨다. 가수분해가 끝난 시료는 50℃에서 rotary evaporater로 산을 제거한 후 Sodium dilution buffer로 10ml 정용한 다음, 이중 1ml를 취하여 membrane filter 0.2 $\mu$ m로 여과시켜 아미노산 자동분석기(S433-H, Sykam GmbH, Germany, Munich)로 정량분석을 한다.

### (2) 항산화

#### 1) 항산화 효소 활성(SOD, CAT, GPx 등)

모유두 세포 (Human hair dermal papilla cells, HHDPCs)에서 항산화 지표 효소인 SOD, CAT, GPx 등을 대상으로 활성을 측정한다. 모유두 세포를 배양 후 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리하여 산화스트레스를 주고 enzyme assay kit(BioVision, San Francisco, CA, USA)을 이용하여 측정한다.

### (3) 항염

#### 1) IL-1, TNF- $\alpha$ , Prostaglandins 등

##### ▪ ELISA

배양이 끝난 실험세포는 Trizol reagent를 이용하여 용해 후, 0.2 mL chloroform를 첨가하여 상온에서 반응시킨다. 반응이 끝나면 원심 분리하여 단백질이 포함된 하등액과 mRNA가 포함된 상등액을 분리한다. 이후, antibody Avidin-HRP conjugated를 처리하고 실온에서 방치 및 세척한 다음 TMB 기질을 분주하여 어두운 곳에서 방치한 후 stop 용액을 넣고 흡광도를 측정한다.



#### ▪ PCR

배양이 끝난 실험세포는 Trizol reagent를 이용하여 용해 후, 0.2 mL chloroform를 첨가하여 상온에서 반응시킨다. 반응이 끝나면 원심 분리하여 단백질이 포함된 하등액과 mRNA가 포함된 상등액을 분리한다. 추출한 RNA는 DEPC(Diethyl pyrocarbonate) 물에 녹여 first strand cDNA로 합성한다. 합성된 cDNA에 사이토카인의 primer를 반응시켜 타겟 유전자를 증폭한 후 유전자 발현량을 분석한다.

### (4) 세포증식 촉진

#### 1) 모유두 세포, 외모근초 세포 증식 촉진 효과

인체에서 분리하거나 상업적으로 판매되는 모유두 세포 (dermal papilla cells, DPCs)와 외모근초 세포(out root sheath, ORS)를 10% Fetal bovine serum (FBS), 100 units/mL penicillin 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 가 첨가된 Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM)을 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양한다. MTT, WST-1, BrdU assay 등을 통해 각 세포의 증식효과를 확인한다.

- ① MTT(3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, a tetrazole): MTT법은 세포 생존과 생장을 검사하는 일종의 방법이다. 검사 원리는 생세포 미토콘드리아 속의 호박산 탈수소 효소가 외생 MTT를 불수용성의 남자색 결정인 Formazan으로 환원하여 세포에 침적시키는 것이며 죽은 세포는 이러한 기능이 없다. 다이메틸설폭시화물(DMSO)은 세포 내 Formazan을 용해할 수 있고, 효소연관면역 검사기로 540 또는 720nm 파장에서 광흡수치를 측정해 생세포 수를 간접적으로 반영할 수 있다.
- ② WST-1: WST-1(Water-soluble tetrazolium salt)법은 세포 증식능력이나 세포생존 능력을 정량하기 위한 방법으로 세포내의 미토콘드리아 탈수소효소에 의해 Tetrazolium Salts(WST-1)에서 formazan이라는 발색물질이 생성되는 것을 ELISA로 측정한다.
- ③ BrdU assay: BrdU(Bromodeoxyuridine)는 새로 합성된 DNA에 결합되며 항 BrdU 항체를 사용하여 검출된다. 방사성 동위 원소 [3H]-thymidine이 세포 DNA에 결합되는 것을 모니터링한 후 방사선 분석을 통해 세포 증식을 연구할 수 있다. BrdU가 DNA에 결합된 세포는 BrdU를 배경으로 단클론 항체와 효소 또는 형광 색소 접합 2차 항체를 사용하여 쉽게 검출된다.

## (5) 모낭주기 조절

### 1) 모발 성장자극인자(IGF-1, HGF, VEGF, EGF 등)

모유두 세포 및 외모근초 세포를 계대 배양한 후 기능성 물질을 처리한 후 세포에서 발현되는 모발 성장자극인자 IGF-1, HGF, VEGF, EGF 등 단백질들의 발현을 RT-PCR 또는 Western blot을 이용하여 측정한다.

### 2) 모발 성장저해인자(TGF- $\beta$ 1, DKK-1, BMP 등)

모유두 세포 및 외모근초 세포를 계대 배양한 후 기능성 물질을 처리한 후 세포에서 발현되는 모발 성장저해인자 TGF- $\beta$ 1, BMP, DKK-1 등 단백질들의 발현을 RT-PCR 또는 Western blot을 이용하여 측정한다.

### 3) 성장기 모발 비율

피부조직 단면 H&E 염색을 통하여 성장기/휴지기 모발 비율을 측정한다.

#### ▪ 탈모 동물모델

C57BL/6 mouse는 생후부터 모든 모낭이 모발성장주기의 성장기로 들어가 털이 자라기 시작하였다가 생후 약 3주경 휴지기로 전이된 다음 바로 2차 성장기로 접어들어 6-8 주경 다시 모든 모낭이 휴지기로 전이되어 약 4주간 이상 지속되므로 실험물질의 효과를 평가하기 위한 시간적 여유가 있다는 장점을 지녔다. 모발건강 유지 기능성 확인을 위한 실험은 체중 21g 내외의 수컷 6주령 C57BL/6 Mouse를 이용하며 실험군은 효율적인 성장효과를 관찰하기 위해 등 쪽 피부의 색이 분홍색을 보이는 휴지기 체모를 가지고 있는 mouse를 사용한다. 피부 표면에(각질층) 최소한의 영향을 주고자 제모기를 이용한 1차 제모 후 제모 크림을 통한 2차 제모를 실시한다.

#### ▪ H&E (Hematoxylin & Eosin) 염색

각 실험동물의 등피부조직을 H&E(Hematoxylin & Eosin, H&E) 염색을 위해 4% 포르말데하이드로 고정한다. 파라핀으로 고정된 4 um 두께의 절편들을 에탄올과 증류수로 수화하고 H&E 시약으로 염색한다. 퍼마운트(자일렌) 한 방울을 유리 막대를 이용하여 기포 없이 슬라이드에 떨어뜨린다. 슬라이드 위에 커버슬립을 부드럽게 얹으면, 퍼마운트는 커버슬립 아래에 퍼지게 되고, 이를 후드에서 하룻밤 동안 말린 후, 현미경 디지털 카메라로 이미지를 획득한다.

- 모낭 (hair follicle) 형태 관찰

조직학적 모낭 (hair follicle) 형태 평가를 하기 위해서 모발주기(telogen, anagen I~VI)의 형태적 특징에 따라 모낭 (hair follicle)이 해당되는 주기 단계를 판정한다. 각 군의 종단면(Longitudinal section)을 H&E 염색한 후, 광학현미경 사진을 통해 정의된 모낭 (hair follicle) 주기 특징을 따라 모낭 (hair follicle) 해당되는 주기 단계를 판정한다.

- 조직학적 관찰

제모된 휴지기에 있는 C57BL/6 마우스가 성장기로 전환되면 모낭(hair follicle)은 피하지방층으로 내려간다. 조직상 단위 면적당 피하지방층에 있는 모낭 (hair follicle)의 개수는 발모 효과를 평가하는데 사용한다. 등조직의 횡단면 (Transverse section)을 H&E 염색한 후, 광학현미경사진을 고정범위 (Length = 1500  $\mu$ m)의 피하지방층의 횡단면에 있는 모낭 (hair follicle) 개수를 계수한다.

## (6) 임상적 평가

### 1) 모발의 탄력 변화

- 인장도 평가: 모발 sampling 시 실내온도  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ , 습도  $50\pm 5\%$ 를 유지하며, 2시간 가량 이 조건에 적응시킨 후에 sampling을 시행한다. 인장도 평가 방법은 모발의 양쪽을 일정한 압력과 2 cm/min의 속도로 잡아당겼을 때 모발이 끊어지지 않고 버티는 인장도를 평가하는 방법으로 3개의 무작위로 고른 모발의 모간을 인장도 측정 장비(만능재료강도시험기, Universal Testing Machine Model 4301, Instron, USA)를 통해 한 부위에서 최소 10회 측정한 평균값을 이용한다. 모발 끊어짐의 정확한 비교를 위하여 측정 부위의 모발은 매번 최대한 동일한 부위에서 시행한다.



그림8. 모발 인장도 검사를 통한 끊어짐 개선 확인

## 2) 모발의 윤기 변화

모발을 sampling 시 실내온도  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ , 습도  $50\pm 5\%$ 를 유지하며, 2시간 가량 이 조건에 적응을 시킨 후에 sampling을 시행한다. 3개의 무작위로 고른 모발의 모간을 전자현미경 촬영을 통해 평가한다.

- ① 전자현미경 이용방법: Scanning electron microscopy(SEM)는 모간 표면에 전자선을 주사하여 나오는 신호에서 정보를 얻어 표면을 관찰하는 장비로 hair surface 평가를 위해 가장 많이 사용되고 있으며, 손상 모간 표면에 대한 12-point scale grading system을 통해 개선도의 척도로 사용할 수 있다. SEM을 통해 모발의 윤기 개선의 유의한 증가(2 point scale 이상 개선)를 평가지표로 사용할 수 있다.

12-point scale

Grade	Criteria
1	Intact hair
2	Irregular overlay only
3	Very gentle lifting up on the edge
4	Crevice due to visibly lifting up on the edge
5	Overall lifting up of cuticle layers and slightly crack or hole form
6	Severe lifting up, crack and hole form
7	Began to slightly desquamation process of severe lifting up of cuticle layers
8	Partially visible desquamation form
9	Overall severe desquamation form
10	Began to exposure the cortex and rest the one-third of cuticle layers
11	Partially exposing of the cortex and rest the half of cuticle layers
12	Exposing of the cortex without cuticle layers

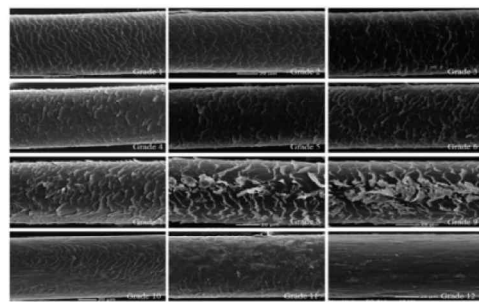


그림9. 모발표면의 윤기를 SEM 전자현미경으로 측정한 12-point scale의 사진 평가기준

[출처: Lee SY et al, Skin Res Technol, 2016]



- ② 윤기 측정기 이용방법: 모발을 sampling시 실내온도  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ , 습도  $50\pm 5\%$ 를 유지하며, 2시간가량 이 조건에 적응을 시킨 후에 hair bundle을 선택하여 3개의 무작위로 고른 부위에서 촬영을 시행 후 평균값을 획득한다. 빛의 산란을 이용해 피부나 모발 표면의 윤기를 수치화할 수 있는 장비를 필요시 고려해볼 수 있다.

- 예) SAMBA Hair system: 모발과 관련하여 윤기(luster), 색상(color), 이미지(image)등의 측정값을 수치화하여 나타낼 수 있다. 측정기기는 편극광카메라(polarization color camera), 편극화 조명(polarized illumination), 시료 장착대(cylindrical mount) 등으로 구성되어 있으며 모발에 빛을 분사하여 각 모발섬유가 반사하는 빛의 반사각을 동시에 측정하여 합산함으로써 모발 시료의 물리적 특성을 산출해 내는 원리를 응용하고 있다.



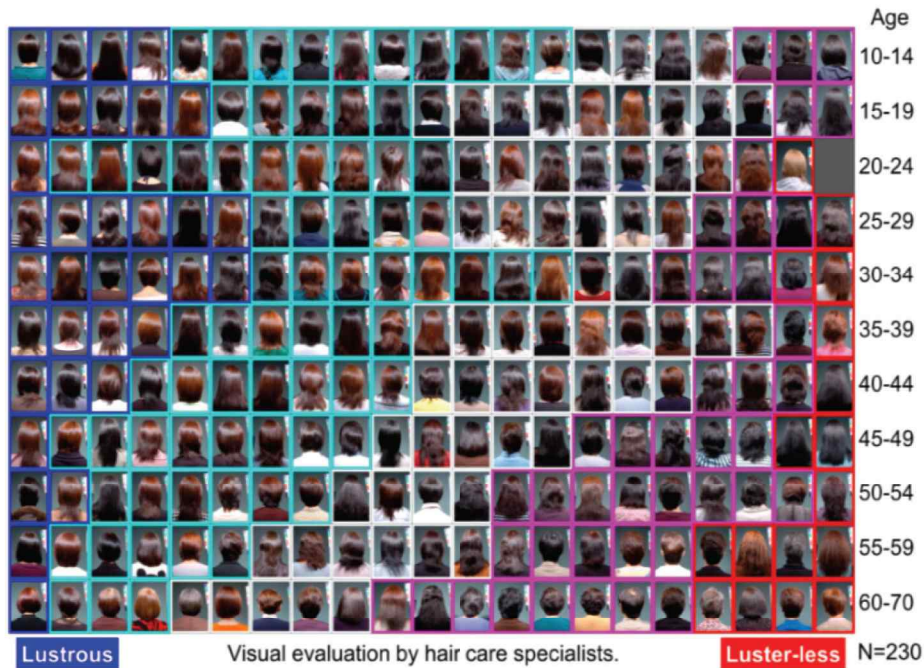
그림10. SAMBA Hair system

[출처: 박혜윤 외, 韓國韓醫學研究院論文集, 2010]

### ③ 육안평가

- 전문가에 의한 육안평가: 모발윤기는 머리를 감고 말린 후 동일한 조명 아래에서 실시하며 다섯 단계(from luster-less to lustrous)로 판정한다(그림11). 이 경우 맹검 평가(blind assessment)를 위하여 독립적 전문가 3인이 시행한다.

1. 윤기가 매우 감소(Luster-less),
2. 윤기가 약간 감소(somewhat luster-less),
3. 윤기가 보통(in-between),
4. 윤기가 약간 있음(somewhat lustrous),
5. 윤기가 매우 있음(lustrous)



“Luster-less” is shown in red, “somewhat luster-less” is pink, “in-between” is white, “somewhat lustrous” is sky blue, and “lustrous” is blue, in this picture.

그림 11. 연령대별 모발 윤기 등급

[출처: Nagase S, Cosmetics, 2019]

### 3) 모발의 직경 변화

포토티코그램(Phototrichogram) 방법을 통해 모발 직경의 변화를 측정한다. 또는, 육안으로 비교적 동일한 10가닥의 모발을 선택하여 A4용지 위에 일정한 간격을 두고 스카치테이프로 고정한 뒤, 모발을 x200배 렌즈를 장착한 HairXPPro를 사용하여 모발 중간부분의 직경을 10회 측정하고 평균값과 표준편차를 계산하여 유의성을 검증한다.

### 4) 대상자 만족도

방문 △△주 이후 피험자의 인체적용시험기관 방문 시 설문지를 이용하여 개선효과, 안전성, 사용편의성 측면에서 각각 주관적 평가지표를 통하여 평가한다.

〈예시〉

- i) 모발이 풍성해졌습니까?
- ii) 탈락 모발 수가 줄었다고 생각하십니까?
- iii) 모발의 두께가 두꺼워졌다고 생각하십니까?
- iv) 모발의 윤기 및 탄력이 좋아졌다고 느끼십니까?
- v) 두피의 전반적인 외양이 좋아졌다고 느끼십니까?
- vi) 모발 성장 속도가 빨라졌다고 생각하십니까?

매우 좋아짐 +3, 좋아짐 +2, 조금 좋아짐 +1, 변화 없음 0  
매우 나빠짐 -3, 나빠짐 -2, 조금 나빠짐 -1

#### 5) 모발 임상 사진을 통한 평가

시험 부위 사진 촬영 방법은 사진 촬영 전에 전체 모발 부위가 보이도록 시험 부위의 모발을 빗고 매번 동일한 부위를 동일한 조건에서 촬영하여야 한다. 촬영된 사진을 이용하여 해당 연구자는 객관적 평가 (Investigator global assessment)를 하며, 이 경우 맹검 평가(blind assessment)를 위하여 독립적 전문가 패널이 시행한다. 호전, 악화 정도는 7단계로 평가한다.

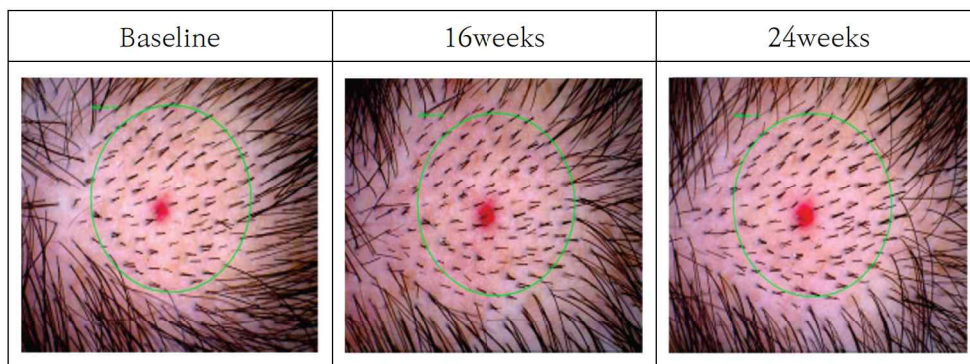
매우 좋아짐 +3(60% 이상), 좋아짐 +2(30~60%),  
조금 좋아짐 +1(0~30%), 변화 없음 0, 매우 나빠짐 -3(60% 이상),  
나빠짐 -2(30~60%), 조금 나빠짐 -1(0~30%)

임상 사진은 전두부를 포함하는 45도 고개 숙인 자세와 두정부를 포함하는 90도 고개 숙인 사진 2장을 촬영한다. 임상 사진은 치료 시작 전, 8주, 16주, 24주 방문에 각각 실시한다.



#### 6) 단위면적 당 총 모발 수의 변화

포토티리코그램(Phototrichogram) 방법: 평가하고자 하는 시험 부위에 직경 1 mm의 작은 점 문신을 하거나 일정 좌표를 기록하도록 하여 매번 점 문신 또는 일정 좌표를 중심으로 하여 매번 동일한 포토티리코그램 사진을 획득하도록 촬영한다. 모발 수의 정확한 측정을 위하여 측정 부위의 모발은 균일하게 짧게 자른 후 측정하고, 매번 최대한 동일한 포토티리코그램 사진을 획득한다. 전체 모발 수(Total hair counts: number/cm<sup>2</sup>)는 1cm<sup>2</sup> 원내에 있는 모발 수로 한다. 단, 인체적용시험에서 보조적 바이오마커로 활용 시 대상자 전체에 대한 고해상도 포토티리코그램 사진과 임상 사진을 확보하여야 한다.



[출처: Choi HC et al, Cosmetics 2019]



### 3. 시험 설계 시 고려사항

#### 가. 시험관 시험

##### (1) 시험계

모유두 세포(dermal papilla cell) 및 외모근초(outer root sheath, ORS) 세포에서 생존, 증식 촉진 및 재생 효과 확인과 모발성장 촉진인자들의 유전자 발현양상 확인을 통해 모발 건강 상태 유지 관련 기전 연구를 진행한다.

##### (2) 바이오마커

생존, 증식 촉진 및 재생 효과 확인 방법은 MTT, WST-1, BrdU assay를 통해 가능하며 모발 성장촉진인자의 변화와 단백질 정량은 Western blot 또는 ELISA 등의 방법으로 확인할 수 있다. 또는 인체 모낭기관 배양(hair organ culture)을 통해 모발 성장, 퇴행기 유도 억제 등을 평가할 수 있다.

##### (3) 통계처리

시험결과는 시험물질 처리에 따른 변화 또는 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여  $p < 0.05$  수준에서 유의성을 판정한다.

#### 나. 동물시험

##### (1) 시험계

동물실험에는 C57BL/6 마우스가 주로 이용된다. 마우스의 경우, 초기에는 모든 모발이 동일한 모발 주기에 있으며 또한 인위적인 방법으로 모발 주기를 동일하게 맞출 수 있어 모발 주기 변화를 보는 실험에 유용하다. 마우스를 이용한 동물시험에서는 휴지기에서 생장기로의 전환을 촉진시키는 효과(생장기 유도 효과)와 생장기에서 퇴행기로의 전환을 지연시키는 효과(퇴행기 억제 또는 생장기 연장 효과)를 확인함으로써 노화 등 생리적 범위의 탈모 증상 완화를 평가할 수 있다.

## (2) 바이오마커

시험물질의 작용기전을 설명하기 위해 바이오마커의 양, 활성, 단백질 발현, mRNA 발현 등을 측정한다. 동물실험의 경우 성장기 모발탄력·직경, 모발윤기, 단위면적당 총 모발 수 등을 함께 측정하여 한 가지 지표의 변화가 아닌 일련의 바이오마커의 변화를 종합적으로 평가한다.

## (3) 통계처리

시험결과는 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여  $p < 0.05$  수준에서 유의성을 판정한다.

## 다. 인체적용시험

### (1) 시험대상

#### ① 시험대상자(예시)

- 만 18~60세의 건강한 탈모 질환이 없는 성인으로 경증도 이상의 손상 모발을 나타내는 남녀<sup>1)</sup>
- 연구기간 동안 특별한 모발 용품을 이용한 모발 관리 및 조작을 하지 않을 대상자
- 연구기간 동안 동일한 머리 모양을 유지할 것을 동의한 자

1) 육안평가 분류법 따른 윤기 점수가 1~3점에 해당하고 위험요인 노출에 따라 평가한 모발손상 총점이 18점 미만인 성인 남녀

#### ▪ 육안평가 분류법 따른 윤기 점수

1. 윤기가 매우 감소, 2. 윤기가 약간 감소, 3. 윤기가 보통,
4. 윤기가 약간 있음, 5. 윤기가 매우 있음

[출처: 남개원, 대한화장품학회지, 2019; Nagase S, Cosmetics, 2019]

- 모발 손상정도의 위험요인 노출에 따른 평가: 모발 손상을 유발하는 위험요인인 염색, 펌, 헤어스타일링, 빗질, 열, 햇빛 노출 등의 회수나 시간에 따라 모발의 손상 정도를 점수화한 것으로 인체적용시험 대상자 선정에 활용할 수 있다. 평가는 아래 제시된 표를 통해 모발손상 행위별 주기를 체크하여 해당 점수를 합산한 후 정도의 손상, 중간 정도 손상, 심각한 손상으로 평가한다.

	1회 이상/6주	1회/6주~3개월	1회 미만/3개월
탈색(bleaching)	+10점	+5점	+1점
펌(perming)	+10점	+5점	+1점
염색(colouring)	+10점	+5점	+1점
커트(hair cut)	-3점	-2점	-1점
	5회 이상/1주	1~5회/1주	1회 미만/1주
고데기(flat iron)	+5점	+3점	+1점
드라이(blow dry)	+3점	+2점	+1점
빗질(combing/brushing)	+3점	+2점	+1점
머리감기(washing)	+3점	+2점	+1점
딥컨디셔닝(deep conditioning treatment)	-5점	-3점	-1점
컨디셔너(rinse off conditioner)	-3점	-2점	-1점
방열 스프레이(heat protection spray)	-3점	-2점	-1점
	5시간 이상/일	1~5시간/일	1시간 미만/일
햇빛 노출(sun exposure)	+5점	+3점	+1점

총점 7점 미만: 경도의 손상, 7점이상 18점 미만: 중간 정도 손상, 18점 이상: 심각한 손상

[출처: Marsh JM et al, Healthy hair, 2015]

## ② 대상자 제외기준(예시)

## ○ 질병상태

- 스크리닝 시 AST 또는 ALT 또는 serum bilirubin > UNL X 2배, 또는 약물성/알코올성 간염, 간경화증, 치료가 필요한 지방간 환자
- 스크리닝 시 serum creatinine > UNL X 2배, 또는 만성 신부전증 환자 또는 투석이 필요한 신장 질환자
- 스크리닝 시 조절되지 않는 고혈압(SBP > 180mmHg 또는 DBP > 110 mmHg) 또는 부종 환자
- 스크리닝 시 조절되지 않는 당뇨병(HbA1c > 9%)
- 과거 5년 이내 악성 종양 기왕력이 있는 자
- 정신과적 질환이 있는 자
- 감염성 피부 질환이 있는 자
- 안드로겐 탈모증, 원형 탈모증, 휴지기 탈모증, 반흔성 탈모증 등의 다른 탈모 질환이 있는 환자

## ○ 생리적 상태

- 임신 또는 수유 중이거나 임신을 계획하고 있는 자

## ○ 약물복용

- 최근 6개월 내 경구 dutasteride 또는 finasteride를 복용한 적이 있는 자
- 최근 1개월간 국소 발모제 및 양모, 육모제를 도포하고 있는 자
- 최근 1개월간 다음 약물을 복용하고 있는 자 : 스테로이드, 세포사멸제, 혈관 확장제, 항고혈압제, 항경련제, 베타수용체 차단제, 기관지 확장제, 이뇨제, spironolactone, cimetidine, diazoxide, cyclosporine, ketoconazole 등
- 최근 1개월간 국소 스테로이드 제제를 두피에 도포하고 있는 자
- 모발의 성장에 영향을 줄 만한 약제를 3개월 이내에 복용한 적이 있거나 현재 복용하고 있는 자

## ○ 생활 습관

- 알코올 섭취  
(남자 40g/일 이상 여자 20g/일 이상, 알코올 40g=17도 소주 0.8병 또는 5도 맥주 1L)

## ○ 알레르기

- 시험물질에 대한 알레르기/부작용이 있는 자

## ○ 기타

- 최근 3개월 내 다른 인체적용시험 및 임상시험 참가자
- 그 외 연구자에 의해 실험에 부적합하다고 판단되는 자



## (2) 시험설계

무작위배정, 위약대조연구(Randomized, controlled trial; RCT)를 기본으로 하고, 시험 기간은 24주 이상으로 한다. 선정 및 선정제외 기준에 따라 모집된 건강한 지원자 중, 2주의 wash-out 기간 뒤 시험 조건에 부합하는 자를 무작위로 제품군과 대조군에 배정하여 시험결과에 영향을 미칠 수 있는 중요한 요소(성별, 연령, 모발의 길이, 모발의 손상정도 등)가 편중되지 않도록 한다.

시험대상자가 모발용품(두피에센스 등) 사용, 생활습관(1일 2회 이하의 샤워, 햇빛 노출 정도) 등에 대한 제한사항 등이 포함된 섭취량 및 섭취 방법 설명서에 따라 시험제품 및 대조제품을 최소 24주 연속 사용하게 한 다음, 모발 탄력·직경, 윤기 등 측정을 통해 대조군 제품의 결과와 시험군 제품의 결과를 비교하여 제품의 모발건강 유지 기능성을 평가한다.

## (3) 바이오마커

기능성 내용을 확인할 수 있는 모발건강 관련 바이오마커의 변화를 측정한다. 바이오마커는 기전별로 다양한 지표들이 포함되어 있기 때문에 연구 목적에 부합하는 추측 기전을 선정하고, 관련된 바이오마커의 결과에 일관성이 나타나야 한다(Ⅲ. 기능성 시험방법 1. 가. 연구유형별 바이오마커 참고).

## (4) 안전성 평가

복용에 따른 일반적인 안전성 항목에 대한 모니터링이 필요하다. 추적 방문 시 문진 및 이화학적 검사를 통한 안전성 평가가 필요하다.

문진을 통한 안전성 평가로 연구자의 관찰에 의해 주관적 자극감(가렵다, 바늘로 찌르듯이 아프다, 화끈거린다, 따끔거린다, 뻗뻗하다, 기타)과 객관적 자극(홍반, 부종, 구진, 기타) 등 두피 안전성을 평가한다.

이화학적 검사를 통한 안전성 평가로는 혈액검사에서 일반혈액검사, 간기능 평가지표를 포함한 일반화학검사, 요검사 및 대상자가 가임기 여성인 경우 임신검사 등을 통해 안전성 검사를 실시한다. 임상적, 실험실적 평가가 자세히 규정되어 있어야 하며, 이상반응 모니터링 절차, 이상반응의 중증도 판정기준 및 시험물질과의 관련성 판정기준 등이 미리 정의되어 있어야 한다.

또한, 기능성원료의 섭취로 호르몬(테스토스테론 등)의 변화가 관찰되는 경우 관련 호르몬의 수치 변화에 대한 추적조사가 필요하며, 혈관/혈행과 관련된 변화가 예상될 경우에는 혈압 및 심전도 모니터링이 포함되어야 한다.

### (5) 통계처리

인구학적 자료 및 기초특성의 측정지표에 대한 통계분석방법을 기술하고 분석군(ITT, FAS, PP)에 대해 명확하게 정의하여 주분석군 설정에 대한 설명이 계획서와 결과보고서에 기술되도록 한다. 또한, 기능성 평가지표에 대한 통계분석방법 및 중도탈락자 및 결측 처리에 대한 통계분석방법을 명확히 한다. 연구 개시 후 측정 시기 및 방법의 변화가 있는 경우, 그 변경 사유를 기술하여야 하며, 층화 분석, 보정분석 등이 제출된 경우, 사전 계획 여부가 기술되도록 한다. 이때, 각 군별 기능성 평가지표에 대한 분석결과에 사용된 통계분석방법, 군간 통계적 유의성, 시험대상자 수, 평균, 표준편차 등이 확인될 수 있도록 하여야 하며 통계분석방법의 변경이 있는 경우, 변경사항에 대해 기술하도록 한다.

### 1. 종속변수가 범주형일 경우

- 범주형 변수는 크게 명목 척도와 순위 척도로 구분할 수 있음
  - 명목 척도 : 성별, 국가, 흡연 여부 등 연속되지 않으며 범주 간 서열이 존재하지 않는 범주형 척도
  - 순위 척도 : 질병의 병기(1기, 2기, 3기) 등 연속되지 않으나 범주 간 서열이 존재하는 범주형 척도
- 연속형 변수는 수치화된 변수로 연속성이 있으며, 평균, 표준편차 등을 계산할 수 있는 변수임

#### 1.1. Chi-square test

- 두 군간의 차이를 비교할 때 사용됨
  - \* 빈도가 5 미만인 항목이 있는 경우 Fisher's exact test를 사용

#### 1.2. McNemar's test

- 군 내의 전후 차이를 비교할 때 사용됨

### 2. 종속변수가 연속형이고 비교군이 2개일 경우

※ 연구 내 비교군이 2개(대조군, 시험군)일 경우 사용되는 분석 모델임

#### 2.1. Paired T-test : 군 내의 전후 차이를 비교할 때 사용됨

##### 2.1.1. Wilcoxon's signed-ranks T-test

- 군 내의 전후 차이 비교 시, 변수의 분포가 정규분포를 따르지 않는 경우 사용됨

#### 2.2. Independent T-test : 두 군간의 차이를 비교할 때 사용됨

##### 2.2.1. Wilcoxon's signed-ranks T-test

- 두 군간의 차이 비교 시, 변수의 분포가 정규분포\*를 따르지 않는 경우 사용됨

#### 2.3. Linear mixed effect model

- 유효성 평가 지표 측정 시점이 3회 이상일 경우 사용할 수 있음\*

\* 방문 시점 간의 공분산 구조(covariance structure)를 결정하여 분석에 적용할 수 있는 모델이며, 효과의 크기(slope), linear function의 절편(intercept) 등의 방문시점, 대상자 등에 따른 고정효과(fixed effect) 또는 무작위효과(random effect)의 여부를 결정하여 model안에 혼합(mixed effect)하여 적용할 수 있음

### 3. 종속변수가 연속형일 경우 AND 비교군이 3개 이상일 경우

※ 연구 내 비교군이 3개(대조군, 시험군1, 시험군2 등)일 경우 사용되는 분석 모델임

3.1. ANOVA(Analysis of variance) : 군 간의 차이를 비교할 때 사용

3.2. Kruskal Wallis test : 군 간의 차이 비교 시, 변수의 분포가 정규분포를 따르지 않는 경우 사용

※ 변수 분포의 정규성 검정

- 정규성 검정 방법은 Kolmogorov-Smirnov test, Shapiro-Wilk test 등의 방법으로 검정할 수 있음. 일반적으로 p value가 0.05 미만일 경우, 정규분포를 따르지 않는 것으로 판단함. 그러나 현실에서 해당 기준에서 정규분포를 따르는 경우가 많지 않으므로, p value가 0.05 이상이라도 marginal한 p value를 확인하거나 Q-Q plot을 육안으로 확인하는 등 연구자가 자의적으로 정규분포를 따르는 것으로 판단할 수 있음
- 군 당 sample size가 30 이상인 경우, 중심극한정리를 이용하여 정규성을 가정하는 경우가 있음. 그러나 중심극한정리는 표본집단이 대표하는 모집단이 무한모집단이라는 가정 하에 사용됨. 즉, 모집단에 대한 가정이 불확실한 경우 또는 유한모집단인 경우가 있으므로 군 당 sample size가 30 이상이라고 해도 정규성 검정이 필요할 수 있음. 또한 30명이라는 기준은 연구자가 임의적으로 설정한 것임을 고려하여 절대적인 기준이 되지 않을 수 있음

4. 교란변수 보정이 필요한 경우

- Randomized Clinical Trial(중재연구)은 randomization을 통해 대상자가 군에 배정 되므로, 교란변수를 통제할 수 있는 설계의 연구임. 그러나 우연에 의해 baseline의 특성이 군 간 차이를 보이는 경우가 발생할 수 있음. 이럴 경우, 연구자는 해당 변수를 공변량(covariate)으로 model에 포함시켜 분석할 수 있음. 그러나 가능할 경우, randomization block으로 생성하여 randomization 단계에서 층화무작위배정 등으로 미리 불균형을 방지하는 것이 바람직할 수 있음

4.1. ANCOVA

- 보정하고자 하는 변수를 모델 내 공변량(covariate)으로 추가할 수 있음

4.2. Linear mixed effect model

- 보정하고자 하는 변수를 모델 내 공변량(covariate)으로 추가할 수 있음



## IV 참고문헌

1. 발모제 임상시험가이드, 식품의약품안전평가원, 2015
2. 탈모방지 등을 위해 사용하는 의약외품의 효력시험법 가이드라인, 식품의약품안전평가원, 2015
3. 의약품 안전사용 매뉴얼 ④ - 발모제, 발모제 올바르게 사용하기, 식품의약품안전처, 2010
4. 탈모증상 완화에 도움을 주는 화장품의 인체적용시험 가이드라인, 식품의약품안전평가원, 2017
5. Guidelines for the Substantiation of Beauty Claims for Food Supplements, food supplements europe, 2014
6. 강내규, 김영현, 박경란, 박수진, 박현섭, 송상훈, 손성길, 임병택, 이상민, 최원경. 모발 노화에 따른 물성변화와 외인성 노화모델의 개발. J Soc Cosmet Sci Korea 45(2):185-198, 2019
7. 강태경, 고민석, 김은화. 탈모증의 이해와 대응책에 관한 연구. 대한피부미용학회지 5(2)45-55, 2007
8. 강정일, 강희경, 고영상, 김은지, 이영기, 유은숙, 임동술, 문정선. 밀기울의 모발 성장 효과. Kor J Pharmacogn 44(4):384-390, 2013
9. 강정일, 강희경, 김영호, 이종건, 유은숙, 최주환. 문주란의 모발 성장기 유도 기전. Kor J Pharmacogn 48(2):148-154, 2017
10. 고정훈, 류민희. 솔잎 추출물의 노인성 탈모 두피 탄력강화에 대한 유효성 연구. 산업융합연구 19(2):127~132, 2021
11. 김관옥, 김성남. 탈모요인 자가인식이 건강관리와 두피,모발관리에 미치는 영향. 한국디자인문화학회지 17(2), 50-60, 2011
12. 김정숙. 천연추출물을 이용한 발모 및 두피 개선에 관한 연구 동향. Kor J Aesthet Cosmetol 17-24, 2014
13. 김기광, 전해리, 조남준, 한효상. 葛根의 착즙 및 열수 추출에 따른 모유두 세포의 모발 성장 관련 mRNA 발현에 미치는 영향. Kor J Herbol 33(1):1-7, 2018

14. 김기광, 조남준, 최선경. 발모 향상을 위한 한약재의 개발 및 효과 확인. *Biotechnol Bioprocess Eng* 31(4):237~245, 2016
15. 김기영, 김광상, 김민, 김복환, 장미여, 진병운. 노화가 진행된 남·여 노인기 모발의 이·화학적 특성과 형태학적 변화. *대한미용과학회지* 6(1):33~40, 2010
16. 김도영, 박수진. 안드로겐탈모증의 약물치료. *J Korean Med Assoc* 63(5):277-285, 2020
17. 김동표, 김종선, 박은준. 모발 염색 시 전후처리 후 명도에 따른 모발 굵기 및 아미노산 변화. *미용예술경영연구* 12(1):19~33, 2018
18. 김미애, 백민희, 서민철, 윤은영, 황재삼. 갈색거저리 유충 추출물의 항산화 활성 및 모발 성장 촉진 효과. *생명과학회지* 27(11):1269-1275, 2017
19. 김명남, 김범준, 김보현, 박진오, 석장미, 여인권, 장진동, 정상욱, 조기정, 현무열. 홍삼사포닌 Rg3가 함유된 샴푸의 탈모방지와 양모개선 효과. *J Soc Cosmet Scientists Korea* 39(3):187-194, 2013
20. 김선오, 배동혁, 이동욱, 이선영, 최은진. 미백, 보습 및 탈모방지에 대한 황칠나무 (*Dendropanax modifera* Lev.)에서 분리한 1-tetradecanol,  $\beta$ -sitosterol의 효과. *J Soc Cosmet Sci Korea* 41(1):73-83, 2015
21. 김영철, 이복순, 오지영. 페퍼민트 오일의 모발성장 촉진효과 및 항비듬균 활성. *대한미용학회지* 10(4) 261-269, 2014
22. 김유진, 김지윤, 김미려, 김문주. 한약재 복합추출물이 모발 성장 및 멜라닌 생성 촉진에 미치는 영향. *Kor J Herbol* 33(5):9-18 2018
23. 김지현, 고성현. 성인여성의 연령과 BMI별 식이섭취와 모발 아미노산 함량의 상관성 연구. *J Invest Cosmetol* 12(3):213-220, 2016
24. 김정원, 이정현, 조아현. 탈모 관련 천연물의 특허 동향 분석. *예술인문사회 융합 멀티미디어 논문지* 19(3):375-387, 2019
25. 김지현, 고성현. 성인여성의 두피모발관련 요인과 모발의 물리적 특성에 따른 뷰티서비스 활용연구. *서비스마케팅저널* 8(2):31~41, 2015
26. 김형기, 김철홍, 강경화, 송춘호, 윤현민. 산사 열수추출물의 모발 성장과 모유두세포의 성장인자 유전자 발현에 대한 영향. *Korean J Acupunct* 34(3):146-155, 2017



27. 남개원. 케라틴 펩타이드에 의한 모발 및 두피 특성 변화 연구. J Soc Cosmet Sci Korea 45(4): 353-361, 2019
28. 박혜윤, 김수나, 강병하, 이존환. 검은콩, 밀, 쌀겨 추출물이 모발의 성장과 물리적 특성에 미치는 효과. 韓國韓醫學研究院論文集 16(3):167~173, 2010
29. 이하늘, 하배진. 발효 5종 혼합물의 항산화 및 모발 성장 촉진 효과. 생명과학회지 28(6), 663-670, 2018
30. 이혜숙, 황석연. C57BL/6마우스 모델에서 DCS-HT® 발모제의 모발성장 촉진 효과. 대한피부미용학회지 7(3):131~142, 2009
31. 임정연, 제갈미. 탈방지제(발모제, 육모제, 양모제)의 최신 연구 동향. Kor J Aesthet Cosmetol 12(6):773~786, 2014
32. 임형식. 뽕은감 추출물의 발모 및 탈모의 기능성 효과. J convergence cult technol 14(3):253-259, 2018
33. 정지은, 조은주. 대추 및 발효대추의 라디칼 소거능 및 모발 성장 촉진 효과. 한국식품영양과학회지 43(8) 1174-1180, 2014
34. 주성수, Lactobacillus plantarum 발효 식물추출물질(MBN)의 in vitro 및 in vivo 발모 효과. Korean J Food Sci Technol 43(3):381-386, 2011
35. Almohanna HM, Ahmed AA, Tsatalis JP, Tosti A. The Role of Vitamins and Minerals in Hair Loss: A Review. Dermatol Ther (Heidelb) 9(1):51&#8211;70, 2019
36. Asghar F, Shamim N, Farooque U, Sheikh H, Aqeel R. Telogen Effluvium: A Review of the Literature. Cureus 27;12(5):e8320, 2020
37. Bassino E, Gasparri F, Munaron L. Protective Role of Nutritional Plants Containing Flavonoids in Hair Follicle Disruption: A Review Int J Mol Sci 21(2):1-17, 2020
38. Beer C, Wood S, Veghte RH. A Clinical Trial to Investigate the Effect of Cynatine HNS on Hair and Nail Parameters. Hindawi Publishing Corporation Scientific World Journal 2014:1-6, 2014

39. Bejaoui M, Villareal MO, Isoda H.  $\beta$ -catenin-mediated hair growth induction effect of 3,4,5-tri-Ocaffeoylquinic acid. *Aging (Albany NY)* 29;11(12): 4216-4237, 2019
40. Boisnic S, Branchet MC, Gaillard E, Lamour I. Miliacin Associated s: Effect on Growth Factors Exwith Polar Lipidcretion and Extracellular Matrix of the Dermal Papilla Hair Follicle Model Maintained in Survival Conditions. *Boisnic et al Hair Ther Transplant* 6(2):1-5, 2016
41. Boisvert WA, Yu M, Choi Y, Jeong GH, Zhang YL, Cho S, Choi C, Lee S, Lee BH. Hair growth-promoting effect of *Geranium sibiricum* extract in human dermal papilla cells and C57BL/6 mice. *BMC Complement Altern Med* 13;17(1):109, 2017
42. Cai J, Wen R, Li W, Wang X, Tian H, Yi S, Zhang L, Li X, Jiang C, Li H. Oil body bound oleosin-rhFGF9 fusion protein expressed in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) stimulates hair growth and wound healing in mice. *BMC Biotechnol* 18(1):51, 2018
43. Cho S, Kim OH. Antioxidative Activity and Protein Expression Effects of the Extracts from *Cinnamomum camphora* on the Hair-growth Relevant Factors. *Asian J Beauty Cosmetol* 14(1):18-29, 2016
44. Choi BY. Hair-Growth Potential of Ginseng and Its Major Metabolites: A Review on Its Molecular Mechanisms. *Int J Mol Sci* 19(9):2703, 2018
45. Choi HC, Nam GW, Jeong NH, Choi BY. Hair Growth Promotion by Extracts of *Inula Helenium* and *Caesalpinia Sappan* Bark in Patients with Androgenetic Alopecia: A Pre-clinical Study Using Phototrichogram Analysis. *Cosmetics* 6(4):1-8, 2019
46. Choi M, Choi SJ, Jang S, Choi HI, Kang BM, Hwang ST, Kwon O. Shikimic acid, a mannose bioisostere, promotes hair growth with the induction of anagen hair cycle. *Sci Rep* 9(1):17008, 2019

47. Choi N, Kim WS, Oh SH, Sung JH. Epiregulin promotes hair growth via EGFR-mediated epidermal and ErbB4-mediated dermal stimulation. *Cell Prolif* 53(9):e12881, 2020
48. Choi YH, Jang M, Jeon JH, Jin MH, Kim JY, Lee SY, Lee SH, Nam YJ, Shin JY. Hair Growth Promoting Effect of *Hottuynia cordata* Extract in Cultured Human Hair Follicle Dermal Papilla Cells. *Biol Pharm Bull* 42(10):1665-1673, 2019
49. Chu SY, Chou CH, Huang HD, Yen MH, Hong HC, Chao PH, Wang YH, Chen PY, Nian SX, Chen YR, Liou LY, Liu YC, Chen HM, Lin FM, Chang YT, Chen CC, Lee OK. Mechanical stretch induces hair regeneration through the alternative activation of macrophages. *Nat Commun* 10(1):1524, 2019
50. Chung CK. Effects of Biotin-rich Functional Food (Whalgichan) on Hair Growth and Biological Stimulation in Rat and Human. *J. Food Sci. Nutr* 5(1):42~47, 2000
51. Daniels G, Akram S, Westgate GE, Tamburic S. Can plant-derived phytochemicals provide symptom relief for hair loss? A critical review. *Int J Cosmet Sci* 41(4):332-345, 2019
52. Deschene ER, Myung P, Rompolas P, Zito G, Sun TY, Taketo MM, Saotome I, Greco V.  $\beta$ -catenin activation regulates tissue growth non-cell autonomously in the hair stem cell niche. *Science* 343(6177):1353-6, 2014
53. Deepa PP, Shane MS, Leslie CS. A Review of the Use of Biotin for Hair Loss. *Skin Appendage Disord* 3(3):166-169, 2017
54. Douglas SK, Susan H. The effect of oral hydrolyzed eggshell membrane on the appearance of hair, skin, and nails in healthy middle-aged adults: A randomized double-blind placebo-controlled. clinical trial *J Cosmet Dermatol* 19(6): 1463-1472, 2019
55. Dunnill CJ, Al-Tameemi W, Collett A, Haslam IS, Georgopoulos NT. A Clinical and Biological Guide for Understanding Chemotherapy-Induced Alopecia and Its Prevention. *Oncologist* 23(1):84-96, 2017



56. Erkin P, Cihat D, Murat T. A proprietary herbal extract against hair loss in androgenetic alopecia and telogen effluvium: a placebo-controlled, single-blind, clinical-instrumental study. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat* 27(2):51-57, 2018
57. Ezekwe N, King M, Hollinger JC. The Use of Natural Ingredients in the Treatment of Alopecias with an Emphasis on Central Centrifugal Cicatricial Alopecia: A Systematic Review. *J Clin Aesthet Dermatol* 13(8):23-27, 2020
58. Fabbrocini G, Cantelli M, Masara A, Annunziata MC, Marasca C, Cacciapuoti S. Female pattern hair loss: A clinical, pathophysiologic, and therapeutic review. *Int J Womens Dermatol* 4(4):203-211, 2018
59. Fernandez-Martos S, Calvo-Sanchez M, Garcia-Alonso K, Castro B, Hashthroody B, Espada J. Sustained Human Hair Follicle Growth Ex Vivo in a Glycosaminoglycan Hydrogel Matrix. *Int J Mol Sci* 20(7):1741, 2019
60. Fuentes-Duculan J, Gulati N, Bonifacio KM, Kunjravia N, Zheng X, Suarez-Farinas M, Shemer A, Guttman-Yassky E, Krueger JG. Biomarkers of alopecia areata disease activity and response to corticosteroid treatment. *Exp Dermatol* 25(4):282-6, 2016
61. Garza LA, Liu Y, Yang Z, Alagesan B, Lawson JA, Norberg SM, Loy DE, Zhao T, Blatt HB, Stanton DC, Carrasco L, Ahluwalia G, Fischer SM, FitzGerald GA, Cotsarelis G. Prostaglandin D2 inhibits hair growth and is elevated in bald scalp of men with androgenetic alopecia. *Sci Transl Med* 4(126):1-21, 2012
62. Glynis A. A Double-blind, Placebo-controlled Study Evaluating the Efficacy of an Oral Supplement in Women with Self-perceived Thinning Hair. *J Clin Aesthet Dermatol* 5(11):28-34, 2012
63. Guo EL, Katta R. Diet and hair loss: effects of nutrient deficiency and supplement use. *Dermatol Pract Concept* 7(1):1-10, 2017
64. Haslam IS, Hardman JA, Paus R. Topically Applied Nicotinamide Inhibits Human Hair Follicle Growth Ex Vivo. *J Invest Dermatol* 138(6):1420-1422, 2018

65. Herman A, Herman AP. Mechanism of action of herbs and their active constituents used in hair loss treatment. *Fitoterapia* 114:18-25, 2016
66. Hornfeldt CS, Holland M, Bucay VW, Roberts WE, Waldorf HA, Dayan SH. The Safety and Efficacy of a Sustainable Marine Extract for the Treatment of Thinning Hair: 62. A Summary of New Clinical Research and Results from a Panel Discussion on the Problem of Thinning Hair and Current Treatments. *J Drugs Dermatol* 14(9):15-22, 2015
67. Hosking AM, Juhasz M, Atanaskova Mesinkovska N. Complementary and Alternative Treatments for Alopecia: A Comprehensive Review. *Skin Appendage Disord* 5(2):72-89, 2019
68. Hughes K, Ho R, Greff S, Filaire E, Ranouille E, Chazaud C, Herbet G, Butaud JF, Berthon JY, Raharivelomanana P. Hair Growth Activity of Three Plants of the Polynesian Cosmetopoeia and Their Regulatory Effect on Dermal Papilla Cells. *Molecules* 25(19):1-19, 2020
69. Jin GR, Zhang YL, Yap J, Boisvert WA, Lee BH. Hair growth potential of *Salvia plebeia* extract and its associated mechanisms. *Pharm Biol* 58(1):400-409, 2020
70. Kakunje A, Prabhu A, Pookoth R, Priya S, Karkal R, Kumar P, Gupta N. A Perspective on Predictive Markers of Alopecia. *Arch Med (Oviedo)* IP:118.216.88.222:263-266, 2021
71. Kang JI, Yoon HS, Kim SM, Park JE, Hyun YJ, Ko A, Ahn YS, Koh YS, Hyun JW, Yoo ES, Kang HK. Mackerel-Derived Fermented Fish Oil Promotes Hair Growth by Anagen-Stimulating Pathways. *Int J Mol Sci* 14:19(9):2770, 2018
72. Keophiphath M, Courbiere C, Manzato L, Lamour I, Gaillard E. "Miliacin encapsulated by polar lipids stimulates cell proliferation in hair bulb and improves telogen effluvium in women". *J Cosmet Dermatol* 19(2):485-493, 2020

73. Kim HS, Kwon HK, Lee DH, Le TN, Park HJ, Kim MI. Poly( $\gamma$ -Glutamic Acid)/Chitosan Hydrogel Nanoparticles For Effective Preservation And Delivery Of Fermented Herbal Extract For Enlarging Hair Bulb And Enhancing Hair Growth. *Int J Nanomedicine* 14:8409-8419, 2019
74. Kim JY, Shin JY, Choi YH, Jang M, Nam YJ, Lee SY, Jeon JH, Jin MH, Lee SII, Hair Growth Promoting Effect of *Ilottuynia cordata* Extract in Cultured Human Hair Follicle Dermal Papilla Cells. *Biol Pharm Bull* 42(10):1665-1673, 2019
75. Kim SM, Kang JI, Yoon HS, Choi YK, Go JS, Oh SK, Ahn M, Kim J, Koh YS, Hyun JW, Yoo ES, Kang HK. HNG, A Humanin Analogue, Promotes Hair Growth by Inhibiting Anagen-to-Catagen Transition. *Int J Mol Sci* 21(12):1-15, 2020
76. Ku KE, Choi N, Sung JH. Inhibition of Rab27a and Rab27b Has Opposite Effects on the Regulation of Hair Cycle and Hair Growth. *Int J Mol Sci* 21(16):5672, 2020
77. Lee HJ, Kwon HK, Kim HS, Kim MI, Park HJ. Hair Growth Promoting Effect of HGF Encapsulated with PGA Nanoparticles (PGA-4HGF) by  $\beta$ -Catenin Activation and Its Related Cell Cycle Molecules. *Int J Mol Sci* 20(14):1-18, 2019
78. Lee SY, Choi AR, Baek JH, Kim HO, Shin MK, Koh JS. Twelve-point scale grading system of scanning electron microscopic examination to investigate subtle changes in damaged hair surface. *Skin Res Technol* 22(4):406-411, 2016
79. Lee WS, Ro BI, Hong SP, Bak H, Sim WY, Kim DW, Park JK, Ihm CW, Eun HC, Kwon OS, Choi GS, Kye YC, Yoon TY, Kim SJ, Kim HO, Kang H, Goo J, Ahn SY, Kim M, Jeon SY, Oh TH.. A new classification of pattern hair loss that is universal for men and women: Basic and specific (BASP) classification. *J Am Acad Dermatol* 57:37-46, 2007



80. Li JJ, Li Z, Gu LJ, Wang YB, Lee MR, Sung CK. Aqueous Extract of Red Deer Antler Promotes Hair Growth by Regulating the Hair Cycle and Cell Proliferation in Hair Follicles. *ScientificWorldJournal* 13:878162, 2014
81. Linda C, David KC. Female pattern hair loss. *Aust J Gen Pract* 47(7):459-464, 2018
82. Ludwig E, Classification of the types of androgenetic alopecia(common baldness)occurring in the female sex. *Br J Dermatol* 97:247-254, 1997
83. Ma J, Ma L, Zhang Z, Li K, Wang Y, Chen X, Zhang H. In vivo evaluation of insect wax for hair growth potential. *PLoS One* 13(2):e0192612, 2018
84. Majeed M, Majeed S, Mundkur L, Nagabhushanam K, Neupane P, Shah K. Clinical Study to Evaluate the Efficacy and Safety of a Hair Serum Product in Healthy Adult Male and Female Volunteers with Hair Fall. *Clin Cosmet Investig Dermatol* 13:691-700, 2020
85. Maria RA, Claudia A. Clinical Evidence of Increase in Hair Growth and Decrease in Hair Loss without Adverse Reactions Promoted by the Commercial Lotion ECOHAIR. *Skin Pharmacol Physiol* 30(1):46-54, 2017
86. Marsh JM, Gray J, Tosti A. Healthy hair. *Springer*. 75-77, 2018
87. Mowat G, Curtis PJ, Lafferty DJ. The influence of sulfur and hair growth on stable isotope diet estimates for grizzly bears. *PLoS One* 1;12(3):e0172194, 2017
88. Muhammad A, Ahmad's NPRT System: A Practical Innovation for Documenting Male Pattern Baldness. *J Cutan Aesthet Surg* 9(3):192-195, 2016
89. Muhammad SA, Fatima N, Paracha RZ, Ali A, Chen JY. A systematic simulation-based meta-analytical framework for prediction of physiological biomarkers in alopecia. *J Biol Res (Thessalon)* 4;26:2, 2019
90. Nagase S. Hair Structures Affecting Hair Appearance. *Cosmetics* 6(43):1-16, 2019

91. Nam YH, Rodriguez I, Jeong SY, Pham TNM, Nuankaew W, Kim YH, Castaneda R, Jeong SY, Park MS, Lee KW, Lee JS, Kim DH, Park YH, Kim SH, Moon IS, Choung SY, Hong BN, Jeong KW, Kang TH. Avocado Oil Extract Modulates Auditory Hair Cell Function through the Regulation of Amino Acid. *Biosynthesis Genes. Nutrients* 11(1):113, 2019
92. Nanashima N, Iiorie K. Blackcurrant Extract with Phytoestrogen Activity Alleviates Hair Loss in Ovariectomized Rats. *Molecules* 24(7):1272, 2019
93. Nobile V, Duperray J, Cestone E, Sergheraert R, Tursil F. Efficacy and Safety of L-Cystine Associated or not to a Natural Keratin (Kera-Diet<sup>®</sup>) Hydrolysate on Hair and Nails: Randomised, PlaceboControlled, Clinical Trial on Healthy Females. *J Cosmo Trichol* 5(1):1-9, 2019
94. Oh JY, Park MA, Kim YC. Peppermint Oil Promotes Hair Growth without Toxic Signs. *Toxicol Res* 30(4):297-304, 2014
95. Park AM, Khan S, Rawnsley J. Hair Biology Growth and Pigmentation. *Facial Plast Surg Clin North Am* 26(4):415-424, 2018
96. Park GH, Park KY, Cho HI, Lee SM, Han JS, Won CH, Chang SE, Lee MW, Choi JH, Moon KC, Shin H, Kang YJ, Lee DH. Red ginseng extract promotes the hair growth in cultured human hair follicles. *J Med Food* 18(3):354-362, 2015
97. Park SY, Kang WS, Choi DB, , Son BM, Park TS. Nonanal Stimulates Growth Factors via Cyclic Adenosine Monophosphate (cAMP) Signaling in Human Hair Follicle Dermal Papilla Cells. *Int J Mol Sci* 21(21):1-13, 2020
98. Patel DP, Swink SM, Castelo-Soccio L. A Review of the Use of Biotin for Hair Loss. *Skin Appendage Disord* 3(3):166-169, 2017
99. Perez-Sanchez AC, Burns EK, Perez VM, Tantry EK, Prabhu S, Katta R. Skin, Hair, and Nail Supplements: Marketing and Labeling Concerns. *Cureus* 12(12):e12062, 2020

100. Pietro G, John PC, Megan AC, Simone G, Alessandra B, Maria GS, Augusto O, Chiara I, Valerio C. Evaluation of Not-Activated and Activated PRP in Hair Loss Treatment: Role of Growth Factor and Cytokine Concentrations Obtained by Different Collection Systems *Int J Mol Sci* 18(2):1-16, 2017
101. Pietro G, Maria GS, Alessandra B, Augusto O, Valerio C. Stem cells from human hair follicles: first mechanical isolation for immediate autologous clinical use in androgenetic alopecia and hair loss. *Stem Cell Investig* 27(4):1-10, 2017
102. Rajendrasingh JR. Controlled clinical trial for evaluation of hair growth with low dose cyclical nutrition therapy in men and women without the use of finasteride. *Plast Aesthet Res* 4:161-173, 2017
103. Schembri K, Scerri C, Ayers D. Plucked Human Hair Shafts and Biomolecular Medical Research. *Scientific World Journal* 31:2013:620531, 2013
104. Seo HS, Lee DJ, Chung JH, Lee CH, Kim HR, Kim JE, Kim BJ, Jung MH, Ha KT, Jeong HS. Hominis Placenta facilitates hair re-growth by upregulating cellular proliferation and expression of fibroblast growth factor-7. *BMC Complement Altern Med* 16:187, 2016
105. Tak YJ, Lee SY, Cho AR, Kim YS. A randomized, double-blind, vehicle-controlled clinical study of hair regeneration using adipose-derived stem cell constituent extract in androgenetic alopecia. *Stem Cells Transl Med* 9(8):839-849, 2020
106. Tenore GC, Caruso D, Buonomo G, Avino MD, Santamaria R, Irace C, Piccolo M, Maisto M, Novellino E. Annurca Apple Nutraceutical Formulation Enhances Keratin Expression in a Human Model of Skin and Promotes Hair Growth and Tropism in a Randomized Clinical Trial *J Med Food* 21(1):90-103, 2018
107. Tobin DJ, Slominski A, Botchkarev V, Paus R. The fate of hair follicle melanocytes during the hair growth cycle. *J Investig Dermatol Symp Proc* 4(3):323-332, 1999



108. Trueb RM. Pharmacologic interventions in aging hair. *Clinical Interventions in Aging* 1(2):121-129, 2006
109. Truong VL, Bak MJ, Lee C, Jun M, Jeong WS. Hair Regenerative Mechanisms of Red Ginseng Oil and Its Major Components in the Testosterone-Induced Delay of Anagen Entry in C57BL/6 Mice. *Molecules* 8;22(9):1505, 2017
110. Turner GA, Bhogal RK. Hair and Aging. *Skinmed* 14(5):338~343, 2016
111. Vincenzo N, Francesco T, Enza C, Renaud S, Joel D. The Effects of the Oral Supplementation with a Natural Keratin Hydrolysate (Kera-Diet®) on Hair and Nails: Randomized, Placebo and Benchmark-Controlled Clinical Trial on Healthy Females. *Original Research* 4(1):7-16, 2021
112. Wu Z, Zhu Y, Liu H, Liu G, Li F. Wnt10b promotes hair follicles growth and dermal papilla cells proliferation via Wnt/ $\beta$ -Catenin signaling pathway in Rex rabbits. *Biosci Rep* 40(2):BSR20191248, 2020
113. Xiao L, Zhang X, Chen Z, Li J, Li B, Li L. Molecular Pathways Involved in Promoting Activity of Timosaponin BII on Hair Growth in C57BL/6 Mice. *Biomed Res Int* 18:9451596, 2020
114. Yu JY, Gupta B, Park HG, Son M, Jun JH, Yong CS, Kim JA, Kim JO. Preclinical and Clinical Studies Demonstrate That the Proprietary Herbal Extract DA-5512 Effectively Stimulates Hair Growth and Promotes Hair Health. *Evid Based Complement Alternat Med* 17:4395638, 2017
115. Zhang NN, Park DK, Park HJ. Hair growth-promoting activity of hot water. *BMC Complement Altern Med* 13:9 doi: 10.1186/1472-6882-13-9, 2013
116. Zheng M, Choi N, Jang Y, Kwak DE, Kim YS, Kim WS, Oh SH, Sung JH. Hair growth promotion by necrostatin-1s. *Sci Rep* 10(1):17622, 2020



## 건강기능식품 기능성 평가 가이드(민원인 안내서)

- 모발 건강 관련 -

---

발 행 인 : 서경원

편 집 위 원 장 : 윤혜정

편 집 위 원 : 이혜영, 윤태형, 권광일, 서은채, 이유경, 고경욱, 정유경,  
홍은경, 김규현, 이미영, 안정선, 최정호, 이세윤, 이민아

발 행 처 : 식품의약품안전평가원

발 행 일 : 2022년 7월

문 의 처 : 식품위해평가부 영양기능연구과  
(043-719-4402, 4409, 4416, 4417, 4419, 4422,  
4428, 4429)

---



# 건강기능식품 기능성 평가 가이드 (민원인 안내서)

MINISTRY OF FOOD AND DRUG SAFETY  
[www.mfds.go.kr](http://www.mfds.go.kr)



**【공직자 부조리 및 공익신고안내】 신고자 및 신고내용은 보호됩니다.**

- ▶ 부조리 신고 : 식약처 홈페이지 “국민신문고 > 공직자 부조리 신고” 코너
- ▶ 공익 신고 : 식약처 홈페이지 “국민소통 > 신고센터 > 부패·공익신고 상담” 코너