

# 툇의 모유두 세포 증식 효능

강정일<sup>1</sup>, 김상철<sup>1</sup>, 김민경<sup>1</sup>, 부혜진<sup>1</sup>, 김은지<sup>1</sup>, 전유진<sup>2</sup>, 유은숙<sup>1</sup>, 강희경<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>제주대학교 의학전문대학원 약리학교실 <sup>2</sup>아쿠아그린테(株)

## Abstract

### Effect of *Hizkia fusiforme* Okamura on the proliferation of dermal papilla cells

Jung-II Kang<sup>1</sup>, Sang-Cheol Kim<sup>1</sup>, Min-Kyoung Kim<sup>1</sup>, Hye-Jin Boo<sup>1</sup>, Eun-Ji Kim<sup>1</sup>, You-Jin Jeon<sup>2</sup>, Eun-Sook Yoo<sup>1</sup>, Hee-Kyoung Kang<sup>1\*</sup>

Department of pharmacology, Jeju National University School of medicine, Jeju of Korea

This study was conducted to evaluate the hair-growth effects of seaweeds in Jeju by the proliferation of dermal papilla cells. Dermal papilla cells are mesenchymally-derived cells which play a pivotal role in the morphogenesis, regeneration, and growth of hair. Immortalized vibrissa dermal papilla cells were treated with algae extracts such as extract of *Hizkia fusiforme* Okamura, extract of *Padina arborescens* Holmes, extract of *Sargassum thunbergii*, extract of *Gelidium amansii*, and extract of *Grateloupia turuturu* Yamada. Among them, the extract of *H. fusiforme* significantly increased proliferation of immortalized vibrissa dermal papilla cells. The results suggest that *H. fusiforme* extract has the potential to promote hair growth via the proliferation of dermal papilla cells. (J Med Life Sci 2011;8:16-20)

Key Words : hair growth, *Hizkia fusiforme* Okamura, dermal papilla cells

## 1. 서 론

최근 몇 십 년 동안 탈모 치료를 위한 많은 연구가 진행되고 있지만, 아직도 탈모의 원인이 무엇인지는 정확히 알려져 있지 않다. 지금까지 밝혀진 탈모요인에 대한 내용을 살펴보면, 모발 주기 조절과 관련된 모유두(dermal papilla)의 증식억제 또는 기능저하<sup>1)</sup>, 남성호르몬의 작용에 의한 모발주기의 비정상화<sup>2)</sup>, 두피로의 혈류량 저하로 인한 모발주기의 비정상적 변화<sup>3)</sup>, 항암제<sup>3, 4)</sup>, 정신적 스트레스, 물리적 자극, 및 환경오염<sup>5, 6)</sup> 등이 거론되고 있다. 현재 모발성장을 촉진하는 약물로 미국식품의약국(Food and Drug Administration, FDA)의 승인을 받은 것으로서 minoxidil과 finasteride가 잘 알려져 있다. Minoxidil은 처음에 고혈압 치료를 위한 혈관확장제로 개발되었으나, 부작용으로 다모증이 보고되면서 발모제로 이용되고 있다. Minoxidil의 발모 효과에 대한 작용기전은 현재까지 명확히 밝혀지지 않았지만, 혈관확장을 통한 영양공급 증가, K<sup>+</sup> 채널 개방효과 및 모유두세포의 세포사멸 억제 효능 등이 모발성장을 유도하는 것으로 생각되고 있다<sup>7-9)</sup>. 또한 Merk에서 개발한 finasteride는 남성호르몬 대사에 작용하는 효소인 5 $\alpha$ -reductase의 활성을 억제시키는 물질로서 전립선 비대증 치료제로 개발되었으며, 안드로젠성 탈

모 (androgenetic alopecia, AGA) 환자에서 모발의 성장을 촉진 시킴이 알려지면서 발모제로 이용되고 있다<sup>10)</sup>. 다양한 연구기관에서 육모 및 탈모 기전에 관여하는 많은 조절 인자들에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 특히 성장기, 퇴행기 및 휴지기의 모발주기에 관련된 여러 인자들과 그들의 수용체에 의한 신호전달에 의하여 조절됨이 계속적으로 보고되고 있다. 예를 들어 FGF family 및 FGFR<sup>11-13)</sup>, IGF 및 IGF-IR<sup>14-16)</sup>, TGF- $\beta$  및 TGF- $\beta$ IR<sup>17-18)</sup> 등의 성장인자들이 모유두의 활성을 촉진 또는 억제하여 모발주기에 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다. 그 밖에, Wnt 경로 및 Bmp 신호전달 기전이 bulge region에 있는 모낭 줄기세포의 증식 또는 분화에 중요하게 작용함이 밝혀지고 있다<sup>19-20)</sup>. 특히 중배엽 유래의 모유두 세포의 수 및 크기가 모발 주기 중 성장기에서 증가하여 모발 성장의 조절에서 중요한 역할을 한다는 것이 보고되어 있다<sup>1, 21)</sup>.

육상식물에서의 육모 효능 연구는 활발히 진행되고 있으나, 해조류에서의 연구는 제주에 자생하는 홍조류인 참도박(*Grateloupia elliptica*)의 육모 효능 연구<sup>22)</sup>를 제외하면 거의 전무한 실정이다. 그래서 제주 연안에 많이 서식하고 있는 갈조류 및 홍조류의 육모효능을 탐색하였다. 제주 연안에 서식하는 다양한 해조류들 중에서 갈조류인 툇 (*Hizkia fusiforme* Okamura), 부챗말 (*Padina arborescens* Holmes) 및 지층이 (*Sargassum thunbergii*), 홍조류인 우뚝가사리 (*Gelidium amansii*) 및 미끌지누아리 (*Grateloupia turuturu* Yamada)에 대한 항염활성<sup>23, 24)</sup>, 항산화활성<sup>25)</sup>, 면역증진효능<sup>26)</sup> 및 항균활성<sup>27)</sup>이 보고되어 있으나, 육모효능에 중요한 모유두세포의 증식효

Address for correspondence : Hee-Kyoung Kang  
Department of pharmacology, Jeju National University School of Medicine, 102 Jejudaehakno, 690-756, Jeju, Korea  
E-mail : pharmkhk@jeju.ac.kr

능에 대한 연구보고는 없다. 따라서 본 연구에서는 제주 연안에 서식하는 이들 5종의 해조류들의 육모 효능을 모유두세포의 증식효능으로 조사하여 이들을 탈모방지제 및 탈모 치료제로 이용할 수 있는 근거를 마련하고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2-1. 재 료

실험재료인 뚝 (*Hizkia fusiforme* Okamura), 부챗말 (*Padina arborescens* Holmes), 지층이 (*Sargassum thunbergii*), 우뚝가사리 (*Gelidium amansii*) 및 미끌지누아리 (*Grateloupia turuturu* Yamada)를 제주 동부 지역의 함덕 해안과 성산포 해안에서 채집하였다. 채집된 해조류는 이물질을 제거하기 위하여 수세하였으며, 수세 후 각 해조류를 동결건조 하였다. 동결건조된 해조류를 20 mesh 필터를 이용하여 균질하게 분쇄하였다. 분쇄한 해조류 분말을 각각 증류수 1 L에 30 g을 가하고 상업적으로 사용되고 있는 당분해 효소인 Celluclast (Celluclast 1.5 L FG, Novo Co.) 300 mL을 첨가하여 잘 혼합한 후, 효소 반응의 최적 조건인 pH 4.5, 50 ℃에서 24시간 동안 추출하였다. 그 후 효소 반응을 중지시키기 위해 pH를 7.0으로 맞추고 100 ℃에서 10분간 끓여주었다. 효소 가수분해물을 원심분리기에서 3,000 rpm, 20분간 원심분리하여 분해되지 않은 잔여물을 제거하였다. 상층액은 다시 membrane filter를 사용하여 여과한 다음 진공 농축하고, 동결 건조하여 -20 ℃에 보관하면서 실험에 사용하였다. 시료 채집 및 추출물의 제조는 (주)아쿠아그린텍에서 수행하였다.

해조류 시료는 모두 dimethyl sulfoxide (DMSO)로 녹여 실험에 사용하였으며, DMSO의 최종 농도는 0.2%를 초과하지 않도록 하였다.

### 2-2 모유두세포의 증식 효능

Rat vibrissa immortalized dermal papilla cell<sup>28)</sup>을 100 units/mL penicillin-100 µg/mL streptomycin (Gibco Inc, NY, USA)과 10% heat-inactivated fetal bovine serum (FBS; Gibco Inc, NY, USA)이 함유된 DMEM (Hyclone Inc, USA) 배지를 사용하여 37 ℃, 5% CO<sub>2</sub>항온기에서 배양하였으며, 3일에 한 번씩 계대 배양하였다. 모유두세포의 증식은 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) assay를 이용하여 측정하였다. 모유두세포 (1.0×10<sup>4</sup> cells/mL)를 96 well plate에 넣고 24시간 배양 후 serum-free DMEM 배지로 교환하여 다시 24시간 배양한 다음 뚝 (*H. fusiforme*), 부챗말 (*P. arborescens*), 지층이 (*S. thunbergii*), 우뚝가사리 (*G. amansii*) 및 미끌지누아리 (*G. turuturu*) 각각의 추출물을 0.1, 1, 10 및 100 µg/mL의 농도로 처리하였다. 양성 대조군인 minoxidil (Sigma, USA)은 10 µM의 농도로 처리하였다. 4일 동안 배양한 후 50 µL의 MTT (Sigma, MO, USA)을 첨가하고 4시간 동안 반응시켰다. 상층액은 제거하고 DMSO 200 µL을 가하여 침전물을 용해시킨 후 microplate reader (Amersham Pharmacia Biotech, NY, USA)

를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료군에 대한 평균 흡광도 값을 구하였으며, 대조군의 흡광도 값과 비교하여 증식 정도를 조사하였다.

### 2-3 통계분석

모든 측정결과는 평균 ± 표준편차로 나타내었으며, 통계학적인 유의성 검정은 student's t-test으로 검정하였으며, P value가 0.05이하일 경우 유의성을 인정하였다.

## 3. 결 과

제주 연안에 서식하는 갈조류인 뚝 (*H. fusiforme*), 부챗말 (*P. arborescens*) 및 지층이 (*S. thunbergii*), 홍조류인 우뚝가사리 (*G. amansii*) 및 미끌지누아리 (*G. turuturu*)의 육모효능을 모유두세포의 증식효능으로 조사하였다. 모유두세포의 증식효능은 MTT assay를 이용하였다. 살아있는 세포의 미토콘드리아 탈수소 효소 작용에 의한 MTT환원에 의하여 생성되는 formazan의 흡광도를 측정하였다.

0.1, 1, 10 및 100 µg/mL의 농도로 여러 해조류 추출물들을 처리하였을 때, 갈조류 중에서 뚝 (*H. fusiforme*) 추출물은 1 및 10 µg/mL의 농도에서 대조군 (100±3.9%)에 비하여 각각 110.1±7.9% 및 134.8±4.0%로 통계학적으로 유의성 있게 모유두세포의 증식을 증가시켰다 (Fig. 1). 특히, 10 µg/mL 농도의 뚝 (*H. fusiforme*) 추출물은 양성대조 물질로 사용한 10 µM minoxidil의 119.9±4.3% 증식 효과보다 더 높은 모유두세포 증식 효과를 나타내었다 (Fig. 1). 그러나, 갈조류인 부챗말 (*P. arborescens*) 및 지층이 (*S. thunbergii*)는 0.1, 1, 10 및 100 µ

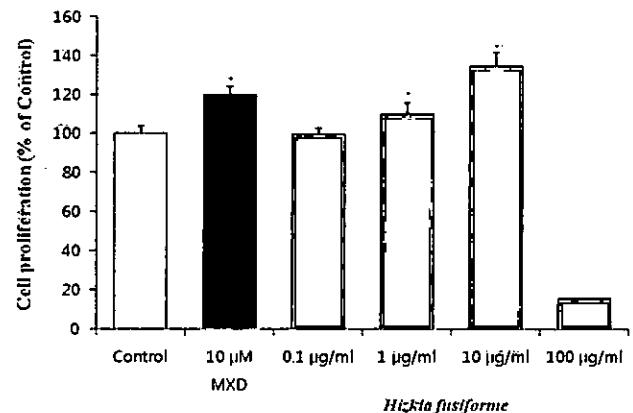


Figure 1. Effect of *Hizkia fusiforme* extract on the proliferation of dermal papilla cells.

Rat dermal papilla cells (1.0×10<sup>4</sup> cells/mL) were plated in 96 well plates. Dermal papilla cells were treated with various concentrations of *Hizkia fusiforme* extract or minoxidil (MXD), as indicated. Cell proliferation was measured using a MTT assay for 4 days. All experiments were performed in triplicate. Data are presented as the mean ± the S.D. \*P<0.05 compared with control.

g/mL의 농도에서 각각  $97.3 \pm 9.1$  (Fig. 2) 및  $95.4 \pm 5.9\%$  (Fig. 3) 이하로 대조군 ( $100 \pm 3.9\%$ )에 비하여 모유두세포의 증식효과를 나타내지 않았다.

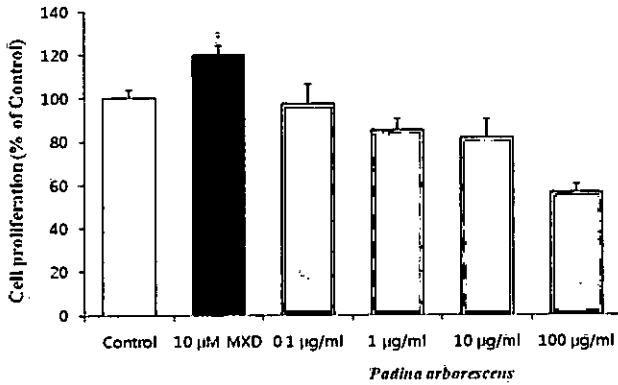


Figure 2. Effect of *Padina arborescens* extract on the proliferation of dermal papilla cells.

Rat dermal papilla cells ( $1.0 \times 10^4$  cells/mL) were plated in 96 well plates. Dermal papilla cells were treated with various concentrations of *Padina arborescens* extract or minoxidil (MXD), as indicated. Cell proliferation was measured using a MTT assay for 4 days. All experiments were performed in triplicate. Data are presented as the mean  $\pm$  the S.D. \* $P < 0.05$  compared with control.

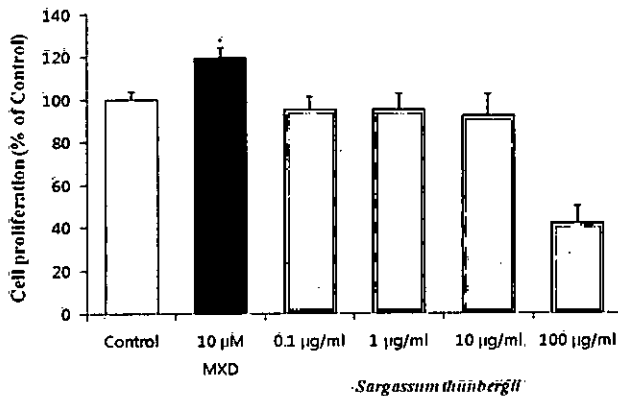


Figure 3. Effect of *Sargassum thunbergii* extract on the proliferation of dermal papilla cells.

Rat dermal papilla cells ( $1.0 \times 10^4$  cells/mL) were plated in 96 well plates. Dermal papilla cells were treated with various concentrations of *Sargassum thunbergii* extract or minoxidil (MXD), as indicated. Cell proliferation was measured using a MTT assay for 4 days. All experiments were performed in triplicate. Data are presented as the mean  $\pm$  the S.D. \* $P < 0.05$  compared with control.

홍조류인 우뚝가사리 (*G. amansii*) 및 미끌지누아리 (*G. turuturu*)도 0.1, 1, 10 및 100 µg/mL의 농도에서 각각  $81.3 \pm$

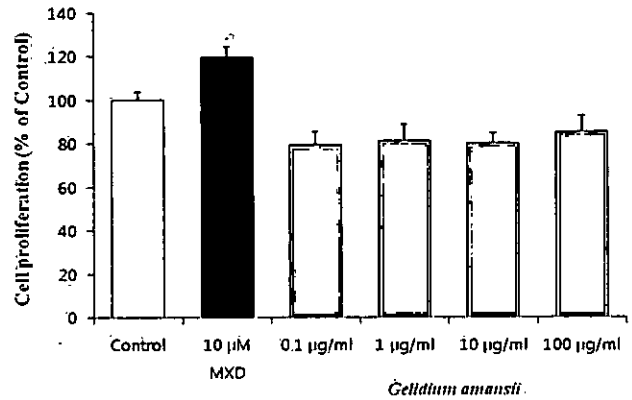


Figure 4. Effect of *Gelidium amansii* extract on the proliferation of dermal papilla cells.

Rat dermal papilla cells ( $1.0 \times 10^4$  cells/mL) were plated in 96 well plates. Dermal papilla cells were treated with various concentrations of *Gelidium amansii* extract or minoxidil (MXD), as indicated. Cell proliferation was measured using a MTT assay for 4 days. All experiments were performed in triplicate. Data are presented as the mean  $\pm$  the S.D. \* $P < 0.05$  compared with control.

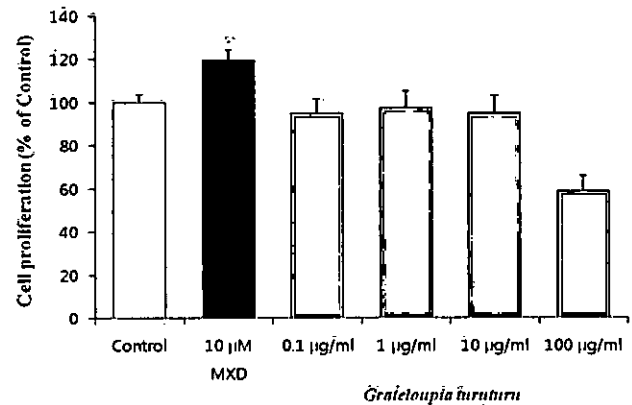


Figure 5. Effect of *Grateloupia turuturu* Yamada extract on the proliferation of dermal papilla cells.

Rat dermal papilla cells ( $1.0 \times 10^4$  cells/mL) were plated in 96 well plates. Dermal papilla cells were treated with various concentrations of *Grateloupia turuturu* extract or minoxidil (MXD), as indicated. Cell proliferation was measured using a MTT assay for 4 days. All experiments were performed in triplicate. Data are presented as the mean  $\pm$  the S.D. \* $P < 0.05$  compared with control.

7.3% (Fig. 4) 및  $97.4 \pm 7.8\%$  (Fig. 5) 이하로 대조군 ( $100 \pm 3.9\%$ )에 비하여 모유두세포의 증식효과를 나타내지 않았다. 그러나, 홍조류인 참도박은 10 및 100 µg/mL의 농도에서 대조군에 비하여  $114.4 \pm 11.5\%$  및  $169.5 \pm 9.4\%$ 로 통계학적으로 유의성 있게 모유두세포의 증식을 증가시켰음을 보고한 바 있다<sup>22)</sup>.

#### 4. 고 찰

최근 들어 탈모로 고민하는 인구가 증가하는 추세이며, 여성의 탈모 인구도 늘어나고 있다. 모발의 성장 및 모발주기조절은 여러 성장인자 및 그 수용체와의 작용 및 호르몬의 작용 등의 다양한 기전에 의해 일어남이 알려져 있다. 특히 상피세포로 이루어진 모낭의 모기질 (hair matrix) 세포와 간엽세포로 구성된 모유두세포가 모발의 형성 및 성장에 중추적인 요소로 작용한다<sup>20)</sup>. 모낭의 성장기에서 모유두세포를 둘러싸고 있는 기질의 각질 세포를 포함한 모낭의 구성세포들의 증식이 일어난다<sup>30)</sup> 모낭의 퇴행기에는 모낭의 성장이 멈추며 모유두의 응축 및 기질의 각질 세포의 세포사멸 등의 변화가 일어나며, 휴지기에는 bulge region을 포함하는 영구적으로 지속되는 부분만이 남아 다음 성장기로 들어가기 위해 준비하게 된다<sup>30, 31)</sup>.

모발성장을 촉진할 수 있는 새로운 치료물질을 찾기 위해서, 제주 연안에 서식하는 여러 해조류의 육모효능을 모낭성장에 중요한 역할을 하는 모유두세포의 증식효능으로 조사하였다. 갈조류인 툯 (*H. fusiforme*), 부챗말 (*P. arborescens*) 및 지렁이 (*S. thunbergii*), 홍조류인 우뭇가사리 (*G. amansii*) 및 미끌지누아리 (*G. turuturu*)의 육모 효능을 rat vibrissa immortalized 모유두세포<sup>26)</sup>를 사용하여 조사하였다. 0.1, 1, 10 및 100  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 5종의 해조류 추출물을 처리하였을 때, 갈조류인 툯 (*H. fusiforme*) 추출물은 10  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 대조군 ( $100 \pm 3.9\%$ )에 비하여  $134.8 \pm 4.0\%$ 로 모유두세포의 증식을 유의성 있게 증가시켰으며 이런 효과는 양성대조 물질로 사용한 10  $\mu\text{M}$  minoxidil의  $119.9 \pm 4.3\%$  증식 증가 효과보다는 다소 높은 것이다. 홍조류인 참도박은 모유두세포의 증식 효능뿐만 아니라 5 $\alpha$ -reductase 억제효능, PGE<sub>2</sub> 생성증가 효능, 염증성 사이토카인 생성 감소 및 비듬균 (*Pityrosporum ovale*) 억제 효능을 나타내어 모발성장을 촉진할 수 있음이 보고하였다<sup>22)</sup>.

본 연구 결과, 툯은 모발성장에 매우 중요한 역할을 하는 모유두세포의 증식을 촉진하여 모낭의 성장기를 활성화시킬 수 있음을 알 수 있다. 따라서 툯은 탈모의 예방 및 효과적인 치료에 이용될 수 있을 것이라 사료된다.

#### 감사의 글

이 논문은 2010년 국토해양부의 재원으로 한국해양과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구임 (과제명: 제주 해조류 유래 탈모방지·양모 소재 및 제품개발).

#### 참 고 문 헌

- 1) Elliott K, Stephenson TJ, Messenger AG. Differences in hair follicle dermal papilla volume are due to extracellular matrix volume and cell number: implications for the control of hair follicle size and androgen responses. *J Invest Dermatol*. 1999;113(6):873-7.
- 2) Kaufman KD. Androgens and alopecia. *Mol Cell Endocrinol*. 2002;198(1-2):89-95.
- 3) Botchkarev VA. Molecular mechanisms of chemotherapy-induced hair loss. *J Invest Dermatol Symp Proc*. 2003; 8(1):72-5.
- 4) Batchelor D. Hair and cancer chemotherapy: consequences and nursing care—a literature study. *Eur J Cancer Care (Engl)*. 2001;10(3):147-63.
- 5) Botchkarev VA. Stress and the hair follicle: Exploring the connections. *Am J Pathol*. 2003;162(3):709-12.
- 6) Aoki E, Shibasaki T, Kawana S. Intermittent foot shock stress prolongs the telogen stage in the hair cycle of mice. *Exp Dermatol*. 2003;12(4):371-7.
- 7) Burton JL, Marshall A. Hypertrichosis due to minoxidil. *Br J Dermatol*. 1979;101(5):593-5.
- 8) Buhl AE, Waldon DJ, Miller BF, Brunden MN. Differences in activity of minoxidil and cyclosporin A on hair growth in nude and normal mice. Comparisons of in vivo and in vitro studies. *Lab Invest*. 1990;62(1):104-7.
- 9) Han JH, Kwon OS, Chung JH, Cho KH, Eun HC, Kim KH. Effect of minoxidil on proliferation and apoptosis in dermal papilla cells of human hair follicle. *J Dermatol Sci*. 2004;34(2):91-8.
- 10) Kaufman KD, Dawber RP. Finasteride, a Type 2 5 $\alpha$ -reductase inhibitor, in the treatment of men with androgenetic alopecia. *Expert Opin Investig Drugs*. 1999;8(4):403-15.
- 11) Häbert JM, Rosenquist T, Gätz J, Martin GR. FGF5 as a regulator of hair growth cycle: evidence from targeted and spontaneous mutations. *Cell*. 1994;8(6):1017-25.
- 12) Ota Y, Saitoh Y, Suzuki S, Ozawa K, Kawano M, Imamura T. Fibroblast Growth Factor 5 Inhibits Hair Growth by Blocking Dermal Papilla Cell Activation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002;290(1):169-76.
- 13) Jang JH. Stimulation of human hair growth by the recombinant human keratinocyte growth factor-2 (KGF-2). *Biotechnol Lett*. 2005;27(11):749-52.
- 14) Itami S, Kurata S, Takayasu S. Androgen induction of follicular epithelial cell growth is mediated via insulin-like growth factor-1 from dermal papilla cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1995;212(3):988-94.
- 15) Kamiya T, Shirai A, Kawashima S, Sato S, Tamaoki T. Hair follicle elongation in organ culture of skin from newborn and adult mice. *Dermatol Sci*. 1998;17(1):54-60.
- 16) Philpott MP, Sanders DA, Kealey T. Effects of insulin and insulin-like growth factors on cultured human hair follicles: IGF-1 at physiological concentration is an important regulator of hair follicle growth *in vitro*. *J*

- Invest Dermatol. 1994;102(6):857-61.
- 17) Hibino T, Nishiyama T. Role of TGF- $\beta$ 2 in the human hair cycle. *J Dermatol Sci.* 2004;35(1):9-18.
- 18) Soma T, Dohrmann CE, Hibino T, Raftery LA. Profile of Transforming Growth Factor- $\beta$  Responses During the Murine Hair Cycle. *J Invest Dermatol.* 2003;121(5):969-75.
- 19) Moore KA, Lemischka IR. Stem cells and their niches. *Science.* 2006;311(5369):1880-5.
- 20) Blanpain C, Lowry WE, Geoghegan A, Polak L, Fuchs E. Self-Renewal, Multipotency, and the Existence of Two Cell Populations within an Epithelial Stem Cell Niche. *Cell.* 2004;118(5):635-48.
- 21) Jahoda CA, Horne KA, Oliver RF. Induction of hair growth by implantation of cultured dermal papilla cells. *Nature.* 1984;311(5986):560-2.
- 22) Kang JI, Kim SC, Han SC, Hong HJ, Jeon YJ, Kim B, Koh YS, Yoo ES, Kang HK. Hair-loss preventing effect of *Grateloupia elliptica*. *Biomolecules & Therapeutics.* 2012;20(1):118-24
- 23) Park C, Choi YH. *Hizikia fusiforme* Inhibits Cyclooxygenase-2 Expression and Prostaglandin E<sub>2</sub> Production by PMA through Inactivation of NF- $\kappa$ B. *J Life Sci.* 2009;19:1396-1402.
- 24) Yang EJ, Moon JY, Kim MJ, Kim DS, Kim CS, Lee WJ, Lee NH, Hyun CG. Inhibitory effect of Jeju endemic seaweeds on the production of pro-inflammatory mediators in mouse macrophage cell line RAW 264.7. *J Zhejiang Univ SciB.* 2010;11:315-322.
- 25) Kim KA, Kong CS, Kim SK. Effect of *Sargassum thunbergii* on ROS mediated oxidative damage and identification of polyunsaturated fatty acid components. *Food Chem Toxicol.* 2010;48:1243-9.
- 26) Fu YW, Hou WY, Yeh ST, Li CH, Chen JC. The immunostimulatory effects of hot-water extract of *Gelidium amansii* via immersion, injection and dietary administrations on white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Fish Shellfish Immunol.* 2007;22:673-85.
- 27) Plouguerne E, Hellic C, Deslandes E, Veron B, Stiger-Pouvreau V. Anti-microfouling activities in extracts of two invasive algae: *Grateloupia turuturu* and *Sargassum muticum*. *Botanica Marina.* 2008;51:202-8.
- 28) Filsell W, Little JC, Stones AJ, Granger SP, Bayley SA. Transfection of rat dermal papilla cells with a gene encoding a temperature-sensitive polyomavirus large T antigen generates cell lines a differentiated phenotype. *J Cell Sci.* 1994;107(Pt7):1761-72.
- 29) Paus R, Müller-Rüver S, Van Der Veen C, Maurer M, Eichmüller S, Ling G, Hofmann U, Foitzik K, Mecklenburg L, Handjiski B. A comprehensive guide for the recognition and classification of distinct stages of hair follicle morphogenesis. *J Invest Dermatol.* 1999;113:523-32.
- 30) Müller-Rüver S, Handjiski B, van der Veen C, Eichmüller S, Foitzik K, McKay IA, Stenn KS, Paus R. A comprehensive guide for the accurate classification of murine hair follicles in distinct hair cycle stages. *J Invest Dermatol.* 2001;117:3-15.
- 31) Soma T, Ogo M, Suzuki J, Takahashi T, Hibino T. Analysis of apoptotic cell death in human hair follicles in vivo and invitro. *J Invest Dermatol.* 1998;111:948-54.