

Bibliographic Data

Int.Cl.	A61K 8/98 A61Q 7/00
Published Date	20080507
Registration No.	1008272520000
Registration Date	20080428
Application No.	1020070036632
Application Date	20070413
Requested Date of Examination	20070430
Agent.	LEECHEOYOUNG
Inventor	RA,JUNG-CHAN CHUNG, Mi Kyoung LEE, Sung Hoon LEE, Keun Young
Rightholder	GwonRi ByeonDong ItEum

발명의 명칭

자가모낭세포를 이용한 발모촉진제 및 그 조성물

Title of Invention

The hair growing promotor using self follicular cell and composition.

요약

본 발명은 CD34에 대해 양성 또는 음성의 면역학적 특성의 두피조직 유래 세포에 의한 발모유도능을 가진 세포 조성물에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 두피조직을 체외에서 조직배양하여 얻어진 CD34 양성세포 및 CD34 음성세포를 일정 혼합비율로 함유하는 발모유도용 세포 조성물, 탈모치료제 및 무모증치료제에 관한 것이다.

본 발명에 따라 얻어진 발모유도용 세포 조성물은 발모촉진을 위한 새로운 세포치료제로써 매우 유용하다.

발모, 모낭 세포, 분화, 대머리, 탈모치료

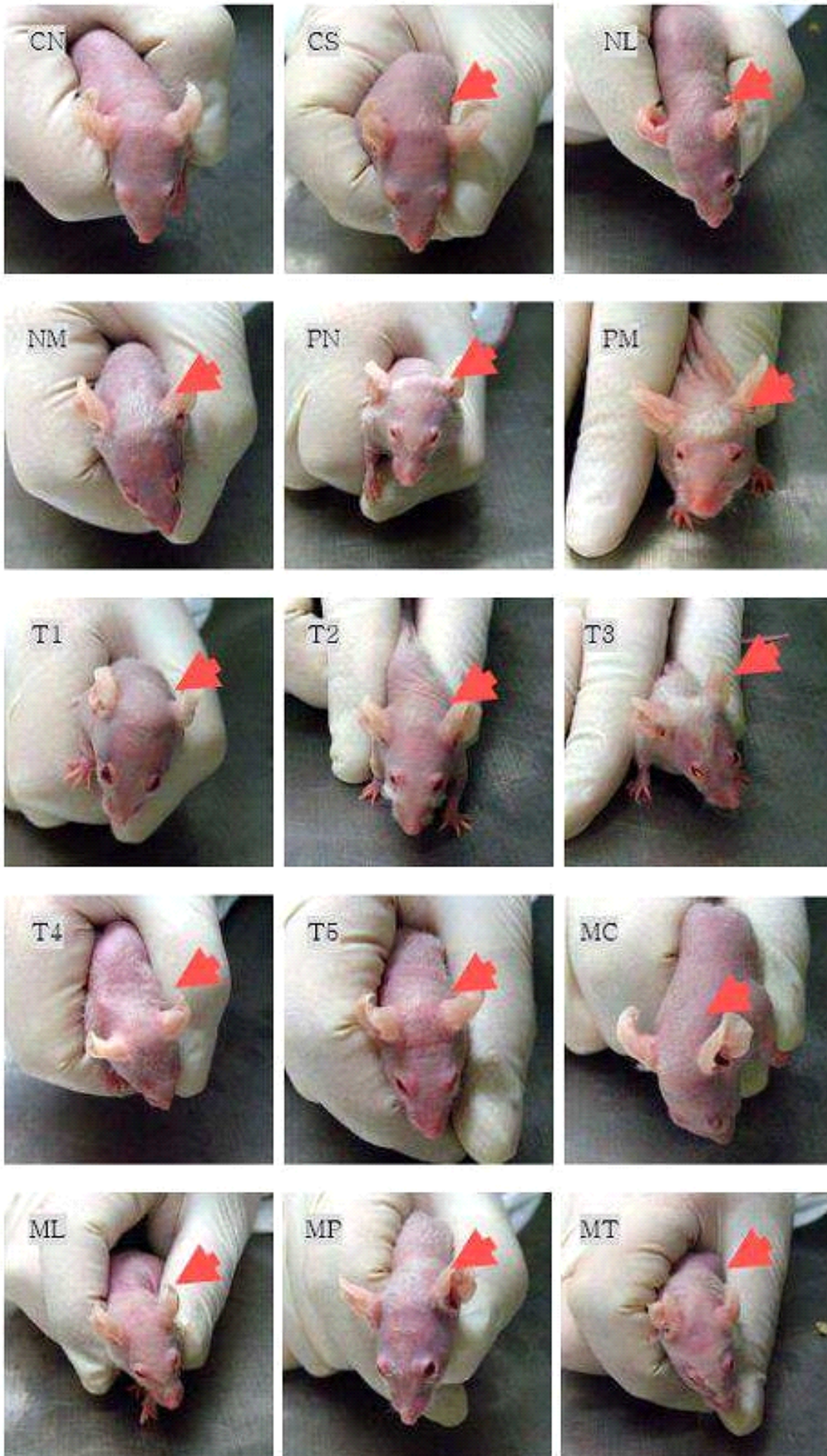
Abstract

The invention relates to the cell composition having the hair growth inducibility by the scalp tissue cellular origin of the immunological characteristic of the positivity about the CD34 or negativity. More specifically, it is related to the hair growth induction cell composition which it has the CD34 positive cell and the CD34 negative cell culturing the scalp tissue in vitro and is obtained as the given mixing ratio it does, the minoxidil, and the atrichia therapeutic agent.

The hair growth induction cell composition obtained according to the invention is very useful as the new cell therapy product for the hair growth stimulator.

The hair growth, the follicular cell, the differentiation, the baldness, the treatment of fallen hair .

대표도면 (Representative drawing)



청구의 범위

Scope of Claims

청구 1항:

Claim 1:

청구 2항:

Claim 2:

청구 3항:

Claim 3:

청구 4항:

Claim 4:

두피조직을 체외에서 조직배양하여 얻어진 CD34 양성세포 및 CD34 음성세포가 1:2의 비율로 함유되어 있는 발모용 세포 조성물.

The cell composition for the hair growth in which the CD34 positive cell and the CD34 negative cell cultivating the scalp tissue at in vitro and is obtained are contained at a ratio of 1:2.

청구 5항:

Claim 5:

청구 6항:

Claim 6:

청구 7항:

Claim 7:

제4항의 발모용 세포조성물을 유효성분으로 함유하는 탈모치료제.

The minoxidil containing the cell composition for the hair growth as an active ingredient of claim 4.

청구 8항:

Claim 8:

청구 9항:

Claim 9:

제4항의 발모용 세포조성물을 유효성분으로 함유하는 무모증치료제.

The atrichia therapeutic agent containing the cell composition for the hair growth as an active ingredient of claim 4.

배경기술

Background Art

본 발명은 CD34에 대해 양성 또는 음성의 면역학적 특성의 두피조직 유래 세포에 의한 발모유도능을 가진 세포 조성물에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 두피조직을 체외에서 조직배양하여 얻어진 CD34 양성세포 및 CD34 음성세포를 일정 혼합비율로 함유하는 발모유도능 세포 조성물, 탈모치료제 및 무모증 치료제에 관한 것이다.

The invention relates to the cell composition having the hair growth inducibility by the scalp tissue cellular origin of the immunological characteristic of the positivity about the CD34 or negativity. More specifically, it is related to the hair growth inducibility cell composition which it has as the CD34 positive cell and the CD34 negative cell cultivating the scalp tissue at in vitro and is obtained as the given mixing ratio it does, the minoxidil, and the atrichia therapeutic agent.

최근 미용에 관한 관심이 높아지면서 탈모증의 치료에 대한 관심 또한 높아지고 있다. 탈모증이란 정상적으로 모발이 있어야 할 곳에 모발이 없는 상태를 말한다. 모발은 생명에 직접 관계되는 중요한 생리적 기능은 없지만 미용적인 관점에서 역할이 매우 크며 이외에도 자외선 차단, 머리 보호 등의 기능이 있다. 탈모가 심한 경우 사회생활을 하는데 문제가 있을 수 있으며 심리적으로도 심각한 영향을 미칠 수 있어서 삶의 질 측면에서 중요하다(Passchier J. et al., *Dermatology*, 197:217, 1998; McDonagh, A.J. and Messenger, A.G., *Dermatol Clin.*, 14:661, 1996).

Recently, the concern toward the treatment of alopecia is moreover raised while the concern about the cosmetic effects is raised. Alopecia refers to state without the hair to the place where the place normally has to have the hair. The role is very great of the point of view called the cosmetic it does not have and besides the function including the anti-ultraviolet, the protecting human head etc. has as the important physiological function, in which the hair is directly connected to life. In case the depilation is serious it lives socially but it can affect and the problem is important at the quality side of life (Passchier J. et al., *Dermatology*, 197:217, 1998; McDonagh, A.J. and Messenger, A.G., *Dermatol Clin.*, 14:661, 1996).

탈모는 임상적으로 상처가 동반되는 반흔성 탈모와 모발만 빠지는 비반흔성 탈모로 나눌 수 있다. 반흔성 탈모의 경우 모낭이 파괴되므로 모발이 다시 나지 않는다. 모발은 모낭이라고 하는 곳에서 만들어지며 각 모낭은 주기적으로 활동과 정지의 단계를 거치게 된다(McDonagh, A.J. and Messenger, A.G., *Derm*

The depilation can be classified into the scar depilation in which the wound is clinically followed and the ratio scar depilation which the hair comes out. In case of the scar depilation, the hair again does not grow since the hair follicle is destroyed. While being made in the place w

atol Clin., 14:661, 1996). 이러한 모발 주기의 시간적 간격은 신체 부위에 따라 다양한데 머리털의 경우에는 26년 정도의 성장기(생장기)와 2 ~ 4주간의 퇴행기를 거쳐서 3 ~ 4개월 정도의 휴식기(휴지기)에 들어가게 된다. 각 모낭은 일생 동안 10 ~ 20회의 모낭 성장 주기(hair follicle growth cycle)를 갖게 된다(Cotsarelis, G., et al., Cell, 29;61:1329, 1990).

정상인의 경우 머리털의 수는 약 10만개 정도이며, 하루에 자라는 길이는 평균 0.37 mm 정도 된다(한 달에 약 1cm 정도 성장). 보통의 경우 머리털의 85~90%는 성장기에 있고 나이를 먹음에 따라 성장기 모낭의 수가 감소한다. 따라서 10~15%의 모낭이 퇴행기나 휴식기에 있으며, 하루 평균 50~60여 개 정도의 머리털이 정상적으로 빠지며 하루 100개 이상 빠지면 탈모증을 의심해야 한다.

탈모의 원인에는 첫 번째로 남성호르몬의 일종인 DHT(다이하이드로테스토스테론)이 모낭에 영향을 주어 단백질 합성 저하와 모낭에 직접 손상을 주어 탈모가 발생한다는 설과 남성호르몬(T testosterone)이 세포내에 있는 수용체인 5 α -리덕타아제(환원 효소)와 결합하여 활동하는데 그 산물인 DHT(다이하이드로테스토스테론)이 DNA전사 과정에서 모낭에 영향, 즉 단백질 합성 저해, 모낭의 손상등으로 탈모가 발생한다는 남성호르몬 영향설이 있다. 두 번째로는 탈모 유전자를 받아 남성호르몬의 영향에 의해 발생한다는 것과 탈모증 자체는 유전이 아니고, 탈모가 되기 쉬운 체질을 조상으로부터 유전 받는다는 유전적 탈모설이 있으며 세 번째로는 스트레스로 인한 탈모설 네 번째로는 두피는 20세 전후까지 두개골은 30세 전 후까지 발달하는데, 이로 인해 두피가 얇아지고, 혈류장애가 원인이 되어 탈모가 된다는 두개골 발달로 인한 탈모설, 마지막으로 노화에 의해 탈모가 발생한다는 설 등 여러 가지 원인이 있는 것으로 보고되고 있다(Shenn, M., Fighting Hair Loss, USA Library Publishing, Inc. p. cm. 97-090157, 1966).

탈모의 치료법으로 여러 가지 방법들이 소개되어 있으나 현재 가장 많이 쓰이고 있는 수술 방법은 자기 자신의 머리털을 이용하여 이식하는 자가모발이식(자기모발이식)이다. 이는 1930년대에 최초로 등장하여 1950년대 미국에 소개된 이후로 꾸준한 발전을 거듭하였다. 또한 과거 15년 사이에 북미와 특히 볼란서를 중심으로 한 유럽에서 대머리 치료를 위한 다양한 모발이식, 두피 피판술 및 탈모부의 두피 축소술 등이 널리 시행되고 있다(Okuda, S., Jpn J Dermatoluro, 46:135, 1939).

그리고 약물치료로는 현재 먹는 약 프로페시아와 바르는 약 미녹시딜 두 가지만 미국 식품안전청(FDA)에서 인정받았다. 탈모

here the hair is called the hair follicle each hair follicle periodically goes through the step of the pause and activity (McDonagh, A.J. and Messenger, A.G., Dermatol Clin., 14:661, 1996). It timelies of this hair cycle it is various according to the body part but the gap enters the rest period (the dormant) of about 3 ~ 4 month in the hair on one's head after the growth phase (the growing stage) of about 26 year and catagen of 2 ~ 4 daytime. Each hair follicle has the hair follicle growth cycle of 10 ~ 20 time for the lifetime (Cotsarelis, G., et al., Cell, 29;61:1329, 1990).

The number of hair on one's head in case of the normal persons are about 10 bay amendment plan. And as to the length, growing in day the average 0.37 mm gad is (about 1cm extent growth in one month). The number of growth phase hair follicle it is in the growth phase and 85~90% of the hair on one's head grows old in case of the normals reduce. Therefore, the hair follicle of 10~15% is in the catagen or the dormant. And if the hair on one's head comes off over 100 while it is the average of a day 50~60 and the hair on one's head of the extent normally comes out alopecia has to be suspected.

There can be the androgen influence theory that the depilation of the receptor within the theory that it affects the hair follicle and it gives the direct damage to the protein synthesis lowering and hair follicle and the depilation is generated and androgen (Testosterone) is the cell the DHT (dihydrotestosterone) called the product it combines with 5 α - reductase and it plays an active part of the DHT (dihydrotestosterone) called a kind of androgen is generated in the DNA transcription process in the hair follicle by the influence, in other words, the protein synthesis impediment, the damage of the hair follicle etc as the reason of the depilation, first. It is not and the alopecia itself that it is generated androgen and the alopecia itself receive the depilation gene as the second and the heredity. It has the depilation theory and 20 years old forward and backward the scalp the skull develops into the third into the depilation theory fourth due to the stress to 30 handing down from generation to generation after. The scalp as a result thins down. It has various reasons standing finally that the depilation is generated with aging including the depilation theory due to the skull development, that the hematocele lesion is caused by and it is depilated etc. and the Gish luck constitution is reported (Shenn, M., Fighting Hair Loss, USA Library Publishing, Inc. p. cm. 97-090157, 1966).

The method of operation for presenting many methods but being most very much used as the therapy of the depilation may be the self hair transplantation (magnetism hair transplantation) transplanted using the hair on one's head of my side. After this appearing in 1930 's for the first time and being introduced to 1950 's U.S. the steady development was repeated. Moreover, the various hair transplantations for the bald head treatment, the scalp reduction of the depilation part and scalp flap surgery etc. are widely carried out on one Europe between 15 year with the North America around especially, the France in the past (Okuda, S., Jpn J Dermatoluro, 46:135, 1939).

And about propecia eaten to the medicine treatment and depilation prevention and treatment effect is the ef

예방 및 치료 효과는 미녹시딜의 경우 20 ~ 30% 정도에서, 프로페시아의 경우 60 ~ 70% 정도에서 효과를 나타낸다고 보고되어 있다. 프로페시아는 1997년 하반기에 남성형 탈모 치료용으로 승인을 받았다. 이 프로페시아는 피나스테라이드라는 물질이 1 mg이 함유되어 있으며 이는 제 2형 5 α -리덕타아제(환원 효소)를 억제하는 물질이다. 이 효소는 테스토스테론(남성 호르몬)과 만나면 탈모를 유발하는 DHT(다이하이드로테스토스테론)으로 변한다. 따라서 이 효소를 억제하면 탈모 인자인 DHT 호르몬으로 인한 것을 억제할 수 있다. 임상사진평가에서 복용한 남성의 66%가 모발의 뚜렷한 재성장이 일어난 것으로 확인되었다. 하지만 이러한 치료 효과는 투여할 당시에는 그 약효가 유효하지만 약의 복용이 중단되면 몇 달 후 약을 먹기 이전의 상태처럼 탈모가 다시 진행된다 (Bouhanna, P., *Dermatol Surg.*, 29:1130, 2003; Thiboutot, D., *Arch Dermatol.*, 135:1417, 1999). 그리고 미녹시딜은 1997년 하반기에 남성형 탈모 치료용으로 최초 승인을 받은 바르는 약물이다. 남녀 모두에서 사용이 가능한 탈모 치료제로써 처음에는 고혈압 환자의 치료제로 사용되었지만 그 부작용으로 머리가 나는 것이 밝혀져 탈모 치료제로 사용되었다. 사용 후 2 ~ 3개월 이후부터 효과가 나타나며 초기에는 머리카락이 더 빠지는 경우도 있지만 시간이 지나면서 개선된다 (Bouhanna P., *Dermatol Surg.*, 29:1130, 2003; Messenger, A.G. and Rundegren J., *Br J Dermatol.*, 150:186, 2004). 하지만 이러한 약물 치료는 성기능 장애 등 많은 부작용이 있는 것으로 보고되고 있다 (Messenger, A.G. and Rundegren J., *Br J Dermatol.*, 150:186, 2004).

최근에 기대되고 있는 치료 방법으로 유전자를 이용한 치료 방법을 들 수 있다. 1998년 1월 미국 콜롬비아 대학의 안젤라 크리스티아노 (Angela Christiano) 박사는 전신적으로 탈모가 일어나는 질환에 관여하는 유전인자를 발견하여 발표함으로써 탈모의 유전자 치료의 새로운 장을 열었다 (Ahmad W., et al., *Science* 30;279:720, 1998). 이러한 유전자 구조를 이용하여 모낭에 직접 원하는 DNA 코드를 전달하는 방법이나 유전자 발현을 차단하는 치료법이 개발되고 있다. 그러나 이러한 치료의 효능성, 치료비용, 안정성, 후대에 미칠 영향 등에 대해 아직 밝혀지지 않은 점이 너무 많고, 탈모에 관여하는 유전인자를 밝혀낸다고 하더라도, 그걸 이용한 치료 방법이 안전하게 현실화되기까지는 상당한 기간이 걸릴 것 같다.

한편, 성장기에 있는 모발의 구근이 모발에 붙어있는 상태로 적출한 다음, 그 모낭세포를 배양하고 이를 다시 적출한 부위에 이식하는 모발 재생 방법이 개시된 바 있으나, 그 효과는 그다지 효율적이지 않은 것으로 간주된다 (미국 특허공보 제 6,399,057 호).

마지막으로 줄기세포를 이용한 탈모 치료 방법이 개발되고 있는데, 줄기세포는 크게 네 가지의 방법으로 얻을 수 있다. 그 첫째는 배아의 발생과정 중 배반포기에 내부세포괴를 추출하여 키우

fect in about 20 ~ 30% in case of the minoxidil in about 60 ~ 70% in case of the propecia the var about minoxidil I two kinds of was acknowledged in the U.S. food safety blue color (FDA) may be referred to the material in which it is reported to show this controls the second version 5 α - reductase while the propecia received approval at 1997 year second half for the android type treatment of fallen hair 1 mg this propecia of the material called the finasteride is contained. This enzyme changes into the DHT (the dihydrotestosterone) which causes the falling out of hair if it meets with the testosterone (androgen). Therefore, due to the DHT hormone called the depilation factor this enzyme is controlled can be controlled. It was confirmed that the clear regrowth of the hair of 66% of the male taking occurred in the clinical photograph evaluation. However, the depilation is again proceeded like the state before taking the medicine after a few months if the effect of medicine is effective but the taking medicine of about is interrupted in at the time which such therapeutic effect administers (Bouhanna, P., *Dermatol Surg.*, 29:1130, 2003; Thiboutot, D., *Arch Dermatol.*, 135:1417, 1999). And the minoxidil is the initial approval for the android type treatment of fallen hair in 1997 year second half may be referred to the var received is the drug. At first, it was used as the therapeutic agent of the hypertensive as the minoxidil capable of the use in man and woman everyone but it was clarified as the side effect that head kept going on and the therapeutic agent was used as the minoxidil. While while the effect is shown after the use from 2 ~ 3 month after the hair more comes out in the initial but time is over time is improved (Bouhanna P., *Dermatol Surg.*, 29:1130, 2003; Messenger, A.G. and Rundegren J., *Br J Dermatol.*, 150:186, 2004). However, the there such medicine treatment is manly sexual dysfunction etc. side effect is reported that it has the side effect in which (Messenger, A.G. and Rundegren J., *Br J Dermatol.*, 150:186, 2004).

Recently, the treatment method using the expected treatment method the gene can be given. By the gene engaging in the disease in which the An JelRa Chris thia scull (Angela Christiano) doctor of 1998 year January U.S. Columbia university the depilation telegraphically occurred being discovered and announcing the new field of the gene therapy of the depilation was opened (Ahmad W., et al., *Science* 30;279:720, 1998). The method for delivering the direct desired DNA code to the hair follicle using this gene structure or the therapy blocking the gene expression is developed. But until the treatment method using the thing the gene engaging in the depilation is disclosed it is so many not to be yet clarified about the influence etc. reaches the efficaciousness, doctors fee dragon, stability, future generations of such treatment safely comes true it is likely to take the suitable period.

In the meantime, after it extracts to the state where the bulb of the hair having in the growth phase sticks to the hair the hair regeneration method cultivating the follicular cell and transplants this to the site which again extracts is initiated. But the effect is not particularly efficient and it is considered (US6,399,057 A).

Finally, the treatment of fallen hair method using stem cell is developed. The stem cell can obtain from the method of four kinds. Firstly, the inner cell mass in the blast

는 방법, 둘째는 태아의 생식세포를 이용하는 방법이고, 세 번째는 돌리와 같이 체세포의 핵을 제거한 난자에 집어넣어 배반포기를 만들어 내부세포괴를 얻는 방법으로, 이들 방법은 초기의 배나 태아 및 난자를 이용하는 방법이다. 네 번째 방법으로는 성인의 몸에서 줄기세포를 얻는 방법이다. 즉, 고전적인 방법인 골수세포를 추출하는 것과 같이 뇌를 포함한 자기재생능력이 있는 성인 장기의 일부조직으로부터 성체 줄기세포를 추출하는 방법이고, 제대혈 까지도 성체줄기세포로 규정될 수 있다. 즉 성체줄기세포는 #39#성체로부터 얻어질 수 있는 자기재생가능(self-renewal)하고 자기유지기능(self-maintenance) 및 다분화능을 보이는 성체의 모든 장기로부터 추출된 세포#39#로 정의된다. 지금까지 넓은 범위의 임상에서 성체줄기세포의 성격과 응용되고 있다. 예를 들면 안구 안쪽에 각막 상피 줄기세포의 동정은 새로운 각막이식의 기술의 발전을 낳았고, 조혈모세포의 특징으로 자가조직의 부분적인 줄기세포 이식과 유전자 치료의 결과를 가져왔다(Cotsarelis, G. et al., Cell 57, 201, 1989; Tsai, R.J. et al., N. Engl. J. Med., 343, 86,2000; Bernstein, I.D. et al., Blood Cells, 20:15, 1994). 탈모나 화상과 같은 다른 피부 질병도 이와 마찬가지로 모낭 줄기세포의 동정과 유전자 분석과 같은 방법으로 치료의 발전을 기대할 수 있다. 표피에서의 줄기세포 개념은 30년 전부터 이미 논의되어 왔다(Potten, C.S., Cell Tiss Kinet, 7: 77, 1974). 최근 세포 배양 연구를 기초로 한 시험관내 연구(Barrandon Y, et al., Proc Natl Acad Sci USA, 84: 2303, 1987; RoCHAT, A., et al., Cell, 76:1063, 1994)들과 마우스에서의 생체 내 연구의 결과들은 표피층의 소낭 내 특정부위(at specific locations in the interfollicular epidermis)와 모낭의 외부 모근초의 윗부분(in the upper regions of the outer root sheath of the hair follicle), 즉 돌출부분(bulge region)이라고 불리는 곳과, 성장기 모낭의 배아기질에 포함된 유사 줄기세포들과 함께 피부 줄기세포의 다소 더 복잡한 분포와 유기적 구조를 제안해 왔다(AI-Barwari, S.E. et al., Intl J Radiat Biol, 30: 201, 1976; Morris, R.J. et al., Cancer Res 46:3061, 1986; CotSarelis, G. et al., Cell, 61: 1329, 1990; Lavker, R.M. et al., J Invest Derm, 101:16, 1993; Morris, R.J., Potten C.S., J Invest Derm, 112:470, 1999; Blanpain, C. et al., Cell, 3;118:635, 2004).

이 분할된 세 부분 피부 줄기세포들 사이의 상호연관성에 대해서는 모낭 돌출부분(bulge region)이 궁극적인 줄기세포의 가장 핵심적인 부분이라고 생각되어지고 있다. 또한 이 모낭 돌출부분(bulge region)에서의 모낭 줄기세포는 CD34 세포표면 단백질을 발현하는 것으로 보고되었고 이 CD34 발현한 세포는 줄기세포의 성격을 가지고 있는 것으로 확인되었다(TremPus, C. S. et al., J Invest Dermatol, 120:501, 2003).

하지만 모낭줄기세포의 명확한 배양법이 확립되지 않았고, 모낭 줄기세포의 표식인자가 불분명하였다. 또한, 일부 모낭 내에 모낭줄기세포가 존재한다는 것이 알려져 있을 지라도, 실제 사람의 대머리 치료를 위해 많은 양의 줄기세포가 필요하였으나, 아직까지 분리된 줄기세포를 임상에서 적용할 수 있을 정도의 양으

ocyst among the generating unit of the embryo bud may be referred to method of using the method, for extracting and fostering secondly, the reproductive cell of the fetus the method of obtaining the inner cell mass it produces, the method using these methods is the archaic ship or the fetus and ovum. The stem cell in the condition of the fourth method adult may be referred to the method for obtaining. That is, the method of extracting the adult stem cell from the partial tissue of the adult long-term when has the self-regeneration capability which implies brain it extracts. It can prescribe as the adult stem cell to the umbilical cord blood. That is, defined as the cell ' extracted from every the long-terms of the adult showing the self-regeneration available (self-renewal), in which the adult stem cell can be obtained from the ' adult the self hold function (self-maintenance) and multipotent. It is so far applied in the clinic of the wide range with the character of the adult stem cell. For example, the identification of the Corneale stem cell caused the power generation of the technology of the new corneal transplant in the eyeball inside. The partial stem cell transplantation of the autogenous tissue and result of the gene therapy were brought to the characteristic of the hematopoietic stem cell (Cotsarelis, G. et al., Cell 57, 201, 1989; Tsai, R.J. et al., N. Engl. J. Med., 343, 86,2000; Bernstein, I.D. et al., Blood Cells, 20:15, 1994). The other skin disease like the depilation or the image is the power generation of the method like the identification of the follicle stem cell like this and gene analysis the treatment are expected. The stem cell concept at skin had been being already discussed before 30 year (Potten, C.S., Cell Tiss Kinet, 7: 77, 1974). Recently, a bit more organized with the complex distribution the structure had been being suggested with similarity stem cells in which the result of in vivo study at one in vitro research (Barrandon Y, et al., Proc Natl Acad Sci USA, 84: 2303, 1987; RoCHAT, A., et al., Cell, 76:1063, 1994) and mice were included in the top (in the upper regions of the outer root sheath of the hair follicle) of the outside root sheath of inside of the vesicle the specific site (at specific locations in the interfollicular epidermis) of the epidermal layer and hair follicle, and the embryonic period quality of the placenta, called as in other words, the projection part (bulge region) and growth phase hair follicle based on the cell culture research (AI-Barwari, S.E. et al., Intl J Radiat Biol, 30: 201, 1976; Morris, R.J. et al., Cancer Res 46:3061, 1986; CotSarelis, G. et al., Cell, 61: 1329, 1990; Lavker, R.M. et al., J Invest Derm, 101:16, 1993; Morris, R.J., Potten C.S., J Invest Derm, 112:470, 1999; Blanpain, C. et al., Cell, 3;118:635, 2004).

The hair follicle projection part (bulge region) is regarded as the most core part of the ultimate stem cell about the interconnectivity between divided these sub-portion skin stem cells. Moreover, it was reported that the follicle stem cell at this hair follicle projection part (bulge region) expressed the CD34 cell-surface protein and the cell revealed with this CD34 had the character of the stem cell and the character was confirmed (TremPus, C.S. et al., J Invest Dermatol, 120:501, 2003).

However, the clear method of cultivation of the follicle stem cell was not established. The factor of character of the follicle stem cell was unknown. Moreover, it was known that the follicle stem cell existed within the some hair follicle. So many stem cell of the amount was needed

로 증식시키는 기술이 미미하였다. 줄기세포의 표지 단백질도 아직까지 정확하게 확립되지 않아 줄기세포를 이용한 탈모치료 방법은 여전히 미흡한 상태이다.

d for the bald head treatment of the real person. But the technology multiplying the so far separated stem cell in an amount of the extent could apply to the clinic was sight. The stem cell the labeling protein of the stem cell is not so far accurately established may be referred to the state where the treatment of fallen hair method used is still insufficient.

발명의 내용

Summary of Invention

발명의 효과

Effects of the Invention

이상 상세히 기술한 바와 같이, 본 발명은 두피조직을 체외에서 조직배양하여 얻어진 CD34 양성세포 및 CD34 음성세포를 일정 혼합비율로 함유하는 발모유도용 세포 조성물, 탈모치료제 및 무모증치료제에 관한 것으로서 본 발명에 따라 얻어진 발모유도용 세포 조성물은 발모촉진을 위한 새로운 세포치료제로써 매우 유용하다.

As described in detail in the above, the invention relates to the hair growth induction cell composition which it has the CD34 positive cell and the CD34 negative cell cultivating the scalp tissue at in vitro and is obtained as the given mixing ratio it does, and the minoxidil and atrichia therapeutic agent. And the hair growth induction cell composition obtained according to the invention is very useful as the new cell therapy product for the hair growth stimulator.

삭제

Deletion .

이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

The specific part of the present invention was particularly described to the or more. And it has to a person skilled in the art of the relevant industry and it is the implementation which such detailed technology only does with desirable. And it is clear the scope of the present invention is not thus limited. Therefore, it is defined with claim and its equivalent in which the substantial range of the present invention is attached.

기술적 과제

Technical Task

이에 본 발명자들은 모낭세포를 이용한 새로운 발모유도 및 탈모치료방법을 개발하고자 예의 노력한 결과, 두피조직을 시험관에서 배양하고, 상기 조직에서 유래된 CD34 양성세포 및 CD34 음성세포를 분리한 다음, 상기 두 가지 세포를 일정비율로 혼합하여 동물실험으로 발모효능을 확인함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

Thus, after the new hair growth conduction using the inventors is the follicular cell, the CD34 positive cell derived from the organization the scalp tissue is cultivated in the incubator make many efforts in order to develop the treatment of fallen hair method and CD34 negative cell were separated by two kinds of cell being mixed to the fixed rate and confirming the hair growth effect as the animal experiment the invention was completed.

본 발명의 목적은 두피조직을 체외에서 조직배양하여 얻어진 CD34 양성세포 및 CD34 음성세포를 일정 혼합비율로 함유하는 발모유도용 세포 조성물을 제공하는데 있다.

It has the CD34 positive cell and the CD34 negative cell in which this Purpose of the invention cultivates the scalp tissue at in vitro and which is obtained as the given mixing ratio the hair growth induction cell composition d one is to be provided.

본 발명의 다른 목적은 상기 CD34 양성세포 및 CD34 음성세포를 유효성분으로 함유하는 탈모치료제 및 무모증치료제를 제공하는 데 있다.

It is another object of the present invention to provide the minoxidil and the atrichia therapeutic agent containing the CD34 positive cell and CD34 negative cell as active ingredient.

발명의 구성 및 작용

Structure & Operation of the Invention

상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 두피조직을 체외에서 조직배양하여 얻어진 CD34 양성세포 및 CD34 음성세포를 일정 혼합비율로 함유하는 발모유도용 세포 조성물을 제공한다.

To accomplish the above objects, the present invention is to provide the hair growth induction cell composition which it has the CD34 positive cell and the CD34 negative cell cultivating the scalp tissue at in vitro and is obtained as the given mixing ratio it does.

본 발명은 상기 CD34 양성세포 및 CD34 음성세포를 유효성분으로 함유하는 탈모치료제 및 무모증치료제를 제공한다.

이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

본 발명은 일 관점에서, 두피조직을 체외에서 조직배양하여 얻어진 CD34 양성세포 및 CD34 음성세포를 유효성분으로 함유하는 발모유도용 세포 조성물에 관한 것이다.

본 발명의 #39#CD34 양성세포 #39#와 #39#CD34 음성세포 #39#중에는 줄기세포의 특성, 즉 미분화, 무한정 증식 및 특정 세포로의 분화능을 갖는 줄기세포가 포함되어 있으며, 유래에 상관없이 본 발명에 적용할 수 있다. 줄기세포는 배아의 발생과정 중에 배반포기의 내부 세포괴에서 추출할 수 있으며 다양한 세포로 분화할 수 있는 능력이 있는 배아 유래 줄기세포, 및 성체의 특정 조직에서 추출할 수 있으며 특정 유래조직으로 분화될 수 있는 능력을 갖는 한계를 가진 성체줄기세포, 이 두 가지로 나눌 수 있는데 후자의 경우에는 모든 조직에서 얻을 수 있으며, 특히 골수, 혈액, 간, 피부, 장, 췌장, 뇌, 골격근 및 치수로부터 주로 분리할 수 있다. 이 때, 본 발명에서의 발모유도에 적용하기 위해서는 모낭을 포함하는 두피에서 분리된 성체 줄기세포인 것이 바람직하며, 자가 두피유래 성체 줄기세포인 것이 보다 바람직하다. 그러나 본 발명은 CD34 양성과 CD34 음성인 세포들과 그것들을 일정비율로 혼합한 세포들의 발모능을 비교 분석하여 발모유도 조성물로서 확립하고자 하는 것이다.

본 발명은 다른 관점에서, CD34 양성세포 및 CD34 음성세포를 유효성분으로 함유하는 탈모치료제 및 무모증치료제에 관한 것이다.

본 발명에서 #39#발모유도#39#는 탈모 부위 또는 무모 부위에 모낭을 형성하여 털이 나도록 유도하는 능력을 말한다.

본 발명의 발모유도용 세포 조성물, 탈모치료제 및 무모증치료제는 CD34 양성세포 및 음성세포가 혼합된 상태로 제조하는 것이 바람직하다.

본 발명의 발모유도용 세포 조성물, 탈모치료제 및 무모증치료제에 함유되는 CD34 양성세포 및 CD34 음성세포는 일정비율로 서로 혼합되어야 최대의 발모유도효능을 나타낼 수 있다. 따라서 상기 두 종의 세포의 혼합비율은 1:1 내지 1:50일 수 있다.

The present invention is to provide the minoxidil and the atrichia therapeutic agent containing the CD34 positive cell and CD34 negative cell as active ingredient.

Hereinafter, the invention is particularly explained.

The invention relates to the hair growth induction cell composition containing the CD34 positive cell and the CD34 negative cell cultivating the scalp tissue at in vitro and is obtained in consistency as an active ingredient.

CD 34 stem cell having the property of the stem cell among the positive cell ' and 'CD34 negative cell ' , in other words, the pulverization, and the blastogenesis to the unlimited proliferation and specific cell are included with 39. And CD 34 stem cell having the property of the stem cell among the positive cell ' and 'CD34 negative cell ' , in other words, the pulverization, and the blastogenesis to the unlimited proliferation and specific cell can apply regardless of the originated to the invention. It can obtain from all organizations in the latter to divide into the adult stem cell which has limit having the capability which can be specialized to the specific originated organization while extracting from the specific tissue of adult and the embryo bud originated stem cell in which has the capability specializing to various cells while the stem cell can extract from the inner cell mass of the blastocyst among the generating unit of the embryo bud, and this two kinds of. And it mainly can separate from especially, the bone marrow, blood, liver, skin, field, pancreas, brain, skeletal muscle and dimension. At this time, the hair follicle it affects the hair growth conduction at the invention may be referred to the be desirable, the be desirable the person is the scalp originated adult stem cell it is the adult stem cell separated from the scalp implied. But the invention relates to to compare and analyze ** * of the cells mixing cells and those which are the CD34 positivity and CD34 voice to the constant rate and the hair growth existence establish as the composition.

The invention relates to the minoxidil and the atrichia therapeutic agent containing the CD34 positive cell and CD34 negative cell as active ingredient in the other point of view.

In the present invention, the ' hair growth conduction ' refers to the depilated area or the capability which it induces so that it forms the hair follicle on the rashness site and the hair grow.

The hair growth induction cell composition of the present invention, and the minoxidil and atrichia therapeutic agent may be the be desirable it manufactures with the state where the CD34 positive cell and negative cell are mixed.

The hair growth induction cell composition of the present invention, and the minoxidil, the CD34 positive cell and the CD34 negative cell contained in the atrichia therapeutic agent exhibit the hair growth conduction eff

며, 바람직하게는 1:1 내지 1:25, 보다 바람직하게는 1:1 내지 1:15, 가장 바람직하게는 1:1 내지 1:10일 수 있다. 일 회 투여량은 1일 당 104 ~ 108 개의 세포를 함유하도록 할 수 있으나, 상기의 양은 당해 기술분야에 속하는 전문가에 의해 결정될 수 있으며, 투여자의 탈모상태 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해서도 다양하게 처방될 수 있다. 또한, 투여 횟수는 일 회 또는 피험자의 상태에 따라 수 회 투여할 수 있다.

본 발명의 발모유도용 세포 조성물, 탈모치료제 및 무모증치료제는 정맥 내 투여, 복강 내 투여, 근육 내 투여, 피하 투여, 또는 국부 투여 등을 포함하는 비경구 투여가 바람직하고, 보다 바람직하게는 피하 투여 또는 국부 투여를 이용하여 투여할 수 있으며, 주로 탈모 또는 발모를 필요로 하는 부위에 직접 주입하는 방법으로 투여할 수 있다.

본 발명의 발모유도용 세포 조성물, 탈모치료제 및 무모증치료제는 소위 #39#대머리#39#로 인식되는 전형적인 남성형 탈모 및 폐경 또는 난소제거 수술 후 발생할 수 있는 여성형 탈모 증에 대한 치료를 위하여 두피에 적용할 수 있을 뿐만 아니라 발모를 필요로 하는 신체 부위라면 어디나 적용할 수 있다. 예를 들면, 외상으로 인한 흉터로 모발이 손상된 부위, 또는 단순 미용효과를 목적으로 하는 넓은 이마 또는 M형 이마, 속눈썹 또는 눈썹 및 무모증의 상태 호전에도 사용할 수 있다.

본 발명의 발모유도용 세포 조성물, 탈모치료제 및 무모증치료제에 포함되는 약제학적으로 허용되는 담체는 제제 시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

본 발명의 발모유도용 세포 조성물, 탈모치료제 및 무모증치료제는 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다. 적합한 약제학적으로 허용되는 담체 및 제제는 Remington#39#s Pharmaceutical Science s (19th ed., 1995)에 상세히 기재되어 있다.

본 발명의 발모유도용 세포 조성물, 탈모치료제 및 무모증치료제는 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화 됨으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.

ect of the maximum it is mixed to the fixed rate. Therefore, the mixing ratio of the cell of two kinds may be preferably, 1:1 to 1:25, more preferably, 1:1 to 1:15, more preferably, 1:1 to 1:10 it can be 1:1 to 1:50. One time amount of administration contains the cell of 1 10 4 ~ 1 0 8 . But the cell can be decided by the expert in which the amount described in the above belongs to the technical field. And the variously can be prescribed with the factors like the depilation state of the administration person and reaction susceptibility. Moreover, according to the administration frequency is the state of one time or the experimentee, it can administer with the several occasions.

The parenteral administration including the hair growth induction cell composition of the present invention, and the minoxidil and atrichia therapeutic agent is the intravenous administration, intraperitoneal administration, intramuscular medication, subcutaneous administration or the local administration etc is the be desirable. More preferably, it can administer using the subcutaneous administration or the local administration. And it can administer to the site which mainly requires the depilation or the hair growth to the direct method for injecting.

If it is the body part which can affect the scalp for the treatment about the feminine alopecia which can be generated after the hair growth induction cell composition of the present invention, and the minoxidil and the typical male pattern alopecia in which the atrichia therapeutic agent is recognized as the so-called ' baldness ' and menopause or the ovary exclusion operation requires the hair growth it can apply as the where. For example, the site or the basic beauty effect in which the hair is damaged to the scar due to the debit can be used in the intended the wide forehead or the mucoid form forehead, and the favorable turn of state of the eyelashes or the eyebrow and atrichia.

The hair growth induction cell composition of the present invention, and the lactose, dextrose, sucrose, sorbitol, mannitol, starch, gum acacia, calcium phosphate, alginate, gelatin, calcium silicate, fine crystallization property cellulose, polyvinyl pyrrolidone, cellulose, water, syrup, methylcellulose, methylhydroxybenzoate, propyl hydroxy benzoate, talc, magnesium stearate and mineral oil etc. generally the minoxidil and the pharmaceutically acceptable carrier included in the atrichia therapeutic agent are used in the agent are included. But it is not thus restricted.

The hair growth induction cell composition of the present invention, and the minoxidil and atrichia therapeutic agent is the lubricant, wetting agent, emulsifier, suspension agent, the preserver etc besides components can be further. The suitable pharmaceutically acceptable carrier and the agent are particularly entered in the Remington's Pharmaceutical Sciences (19th ed., 1995).

According to the hair growth induction cell composition of the present invention, and the minoxidil and the method which the atrichia therapeutic agent an ordinary person skilled in the art easily can perform, by becoming using the pharmaceutically acceptable carrier and/or the diluting agent with formulation the unit dosage form is manufactured with the unit dosage form or it inserts within

the multiple dose container and it can be manufactured. And the dispersing agent or the stabilizer is include might additionally.

본 발명의 발모유도용 세포 조성물, 탈모치료제 및 무모증치료제는 단독의 요법으로 이용될 수 있으나, 다른 통상적인 발모 유도 약물요법 또는 수술요법 등과 함께 이용될 수도 있으며, 이러한 병행 요법을 실시하였을 경우 극대화된 효능을 나타낼 수 있다.

The hair growth induction cell composition of the present invention, and the minoxidil and atrichia therapeutic agent exhibit the effect which can be used as the single therapy and but it can be used with the other conventional hair growth induced medicine therapy or the operative therapy etc. and becomes maximized in case of performing this combination therapy.

본 발명의 발모유도용 세포 조성물, 탈모치료제 및 무모증치료제와 함께 이용될 수 있는 약물제제는 피나스테라이드(Finasteride), 두타스테라이드, 싸이옥톨(Cyocitol) 및 RU58841를 포함하는 남성 호르몬 또는 DHT 유발 억제제, 부갑상선 호르몬(PTH) 억제제, 미녹시딜, 버셀린(Burserelin), 혈액순환 개선제 및 메소테라피에 응용되는 조성물 등을 들 수 있으며, 수술요법으로는 모발이식, 두피 피판술, 두피 축소술 등을 들 수 있다.

The composition etc. can be given. And applied to the hair growth induction cell composition of the present invention, and androgen including the pharmacological formulation which can be used with the atrichia therapeutic agent is the finasteride, the dutasteride, and the Femoral region octol (Cyocitol) and RU58841 or the DHT induction suppression agent, parathyroid hormone (PTH) inhibitor, minoxidil, burr seline (Burserelin), product for improving the blood circulation and meso therapy the hair transplantation, the scalp flap surgery, the scalp reduction etc. can be given about the operative therapy.

이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

Hereinafter, the invention tries to be more particularly explained through the embodiment. It will be obvious in the relevant industry as to a person skilled in the art that the scope of the present invention is not limited by these embodiments to according to the gist of the present invention these embodiments only explain more concretely the invention.

실시예 1: 두피조직유래 모낭세포의 배양

embodiment 1: the cultivation of the scalp tissue originated follicular cell.

두피유래 조직을 세절한 다음, 콜라게나아제 타입 IA가 함유된 배지(10% 우태아혈청(Gibco, USA), 100 unit의 페니실린, 0.1 mg/ml의 스트렙토마이신, 0.25 μ g/ml의 네오마이신(Gibco, USA), 100 μ g/ml의 노르모신(Invivogen, USA)이 함유된 DMEM(Gibco, USA) 및 2 mg/ml의 콜라게나아제 타입 IA(Sigma, USA)이 첨가된 배지)에 넣어 130 m/min, 37 $^{\circ}$ C에 30분 동안 중력대류배양기에서 화학적 분해가 이루어지도록 하였다. 화학적 분해된 조직을 원심분리로 수거하여 PBS로 3번 세척한 다음, M199/F12 혈청배지(1:1의 M199 및 F12, 0.62 μ g/ml의 인슐린(Sigma, USA), 0.62 μ g/ml의 트랜스페린(Gibco, USA), 100 unit의 페니실린, 0.1 mg/ml의 스트렙토마이신, 0.25 μ g/ml의 네오마이신(Gibco, USA), 10 ng/ml의 rEGF(Sigma, USA), 10 ng/ml의 bFGF(Sigma, USA), 100 μ g/ml의 노르모신(Invivogen, USA), 10% 우태아혈청 및 1mM의 N-아세틸-L-시스테인(Sigma, USA)를 첨가한 배지)에서 조직배양을 하였다. 약 3일 후부터 조직들이 배양용기 바닥에 부착되기 시작하면, M199/F12 무혈청 배지로 교체하여 일주일동안 배양하고, 노르모신이 없는 케라티노사이트 무혈청 배지(0.2 mM 아스코르빈산(Sigma, USA)을 첨가한 Defined keratinocytes 무혈청 액상배지(Gibco cat# 10785-012, USA)로 교체하여 배양하여 배양용기에 부착되는 성질에 따라서 세포1(배양 초기부터 세포배양용기 바닥에 부착된 세포군), 세포2(1세대 이후부터 부착된 세포군), 세포3(부유세포군)으로 각각 명명하였다.

After the scalp originated organization was sliced it put into culture medium (the collagenase type I A (Sigma, USA) of 2 mg/ml and the DMEM (Gibco, USA) in which 10% fetal bovine serum (Gibco, USA), the penicillin of 100 unit, the streptomycin of 0.1 mg/ml, the neomycin (Gibco, USA) of 0.25 μ g / ml, and the Normo (Invivogen, USA) of 100 μ g / ml are contained-added culture medium) in which the collagenase type IA was contained and the chemical decomposition was comprised in the gravity convection culture medium in 130 m / min, 37 $^{\circ}$ C for 30 minutes. The M199 / F12 serum medium the chemical dissolved organization is taken away to the centrifugation (1: it cultivated at culture medium) with the M199 of 1 and F12, the insulin (Sigma, USA) of 0.62 μ g / ml, the transferrin (Gibco, USA) of 0.62 μ g / ml, the penicillin of 100 unit, the streptomycin of 0.1 mg/ml, the neomycin (Gibco, USA) of 0.25 μ g / ml, the rEGF (Sigma, USA) of 10 ng / ml, the bFGF (Sigma, USA) of 10 ng / ml, the Normo (Invivogen, USA) of 100 μ g / ml, and the N-acetyl -L-Cysteine of 1mM and 10% fetal bovine serum. According to the Defined keratinocytes serum-free liquid medium (Gibco cat# 10785-012, USA) with the keratinocyte invivogen medium (0.2 mM ascorbic acid (Sigma, USA) with out the Normo organizations begin to be adhered to the culture vessel bottom surface from about 3 Witterung property adhered to the culture vessel it replaces and it cultivates, it christened the cell 1 (the cell aggregates adhered to the cell culture vessel bottom surface from the start), the cell 2 (the cell aggregates adhered from 1 passage after), and the cell 3 (swarm cell group).

실시예 2: MACS를 통한 두피조직유래 모낭세포의 분류

상용화 되어있는 MACS(Magnetic Cell Sorting, Miltenyi Biotec Inc., Germany)를 이용하여 CD34 양성세포를 분리하였다. 실시예1에서 얻어진 세포를 수거하여 세척한 다음, 배지를 첨가하여 피펫팅으로 단일세포로 부유시키고 150 ~ 300 μl MACS 버퍼와 50 ~ 100 μl 블로킹 리전트, 50 ~ 100 μl 마이크로 비드를 순서대로 첨가하였다. 상기 혼합액을 제조하는 과정은 암상태에서 수행하였으며, 혼합액이 담긴 튜브는 알루미늄 호일로 싸고, 4 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30분 내지 4시간동안 반응시켰다. 그 후에 알루미늄 호일을 벗기고 혼합액의 약 10배 부피의 MACS 버퍼를 튜브에 추가하고 피펫으로 잘 섞어준 후 1200 rpm에서 5 ~ 6분간 원심분리하고, 상층액은 제거하였다. 500 μl MACS 버퍼를 세포의 수에 맞게 첨가한 다음, CD34 양성세포와 CD34 음성세포를 제조사가 권장하는 방법에 따라 MACS를 사용하여 분리하였다. 이때 수거된 CD34 양성세포의 세포수는 약 $1 \sim 2 \times 10^7$ 이었으며, 멸균생리식염수 100 μl 에 재부유시켜 추후의 동물실험에 사용하였다.

embodiment 2: the classification of the scalp tissue originated follicular cell through MACS.

The CD34 positive cell was separated using the commercialized MACS (Magnetic Cell Sorting, Miltenyi Biotec Inc., Germany). After the cell obtained in the embodiment 1 was taken away and it washed the culture medium was added and it floated and in order, 150 ~ 300 μl MACS buffer and 50 ~ 100 μl blocking reagent, 50 ~ 100 μl microbead were added to the pipetting to single cells. A process of manufacturing mixed solution performed in the dark state. And the tube in which it held the mixed solution wrapped up in the aluminium foil. It reacted at 4 $^{\circ}\text{C}$ for 30 minutes to 4 hours. Thereafter, after the aluminium foil being peeled off and the MACS buffer of about factor of ten volume of the mixed solution being added to the tube and well mixing to the pipet it centrifuged in 1200 rpm. The supernatant removed. According to method of the manufacturer recommending the CD34 positive cell and CD34 negative cell it adds according to the cellular number, it separated using MACS. At this time, the cell number of the CD34 positive cell taken away was the White heat $\sim 2 \times 10^7$. And it made resuspended in the sterile physiological saline solution 100 μl and it used in the animal experiment of the afterward.

실시예 3: 두피조직유래 모낭세포의 발모치료 효과

6주령의 수컷 BALB/cAnNCrjBgi-nu 누드마우스((주)중앙실험동물)에 1×10^5 개의 CD34 양성세포를 피하 주사하였다. 투여하기 전 대조군을 사진을 찍어 시간이 지난 후의 마우스의 상태변화와 비교하였다. 본 실험에 사용된 67마리의 누드마우스는 서울대학교 수의과대학 실험동물사육실 내 SPF 구역에서 사육하였으며, 무작위법으로 각각 5마리씩이 포함되도록 군을 분리하여 실험을 수행하였다. 시험군의 구성은 아래 표와 같다 (표 1).

embodiment 3: the hair growth treatment effect of the scalp tissue originated follicular cell.

The CD34 positive cell of 1×10^5 was hypodermic injected in the male BALB / cAnNCrjBgi-nu nude mouse ((main part) central lab animal) of 6 age. Before administering the picture was filmed and the control group was compared with the state change of the mouse after time was over. The nude mouse of 67 numbers used in this experiment bred in the Seoul National University veterinary college experimental animal breeding indoor SPF section. And group was separated so that the respective 5 numbers be included to the random method and the experiment was performed. The configuration of the test group is same as those of the lower part table (table 1).

그룹	세포수	마리수	Group	Cell number	Livestock on hand
대조군	무처리(CS)	NA	5	Untreated(CS)	NA
식염수투여(CN)	NA	5	Control group	Untreated(CS)	5
CD34양성 단독투여군	저용량(NL)	1X 104	5	Saline solution administration(CN)	NA
중용량(NM)	1X 105	5	CD34 positivity single giving medication group	Low capacity (NL)	1X 104
CD34음성 단독투여군	저용량(PL)	1X 104	5	Medium capacity(NM)	1X 105
중용량(PM)	1X 105	5	CD34 voice single giving medication group	Low capacity (PL)	1X 104
CD34양성/CD34음성	2:1(T1)	6.6X104 : 3.3X104	5	Medium capacity(PM)	1X 105
혼합투여군				CD34 positivity / CD34 voice	2:1(T1)
1:1(T2)	5X104 : 5X104	5	Mixed dosage group		6.6X104: 3.3 X104
1:2(T3)	3.3X104 : 6.6X104	5		1:1(T2)	5X104: 5X104
1:4(T4)	2X104 : 8X104	5		1:2(T3)	3.3X104: 6.6 X104
1:8(T5)	1.1X104 : 8.8X104	5		1:4(T4)	2X104:8X104
				1:8(T5)	1.1X104: 8.8 X104

또한, 상용되는 탈모치료제 미녹시딜(Minoxidil, Pfizer, USA)를 배양된 세포와 병합 사용하여 발모효과를 평가하기 위해 각 군당 3마리의 마우스가 포함되도록 하여 표 1과 대비되는 실험

Moreover, in order to annex and use the minoxidil minoxidil (Minoxidil, Pfizer, USA) used commonly with the cultivated cell and evaluate the epilation effect the mou

군을 편성하였다 (표 2).

그룹	세포수	마리수
미녹시딜 대조군(MC)	NA	3
미녹시딜 처치군	CD34양성	1X 105
CD34음성	단독투여군(MP)	3
단독투여군(MN)	1X 105	3
CD34양성/CD34음성	5X104 : 5X104	3
혼합투여군(MT)		

se of 3 numbers per each group was included and the experimental group contrasted with the table 1 was formed (table 2).

Group	Cell number	Livestock on hand
Minoxidil control group(MC)	NA	3
Minoxidil treatment group	CD34 positivity	1X 105
CD34 voice	Single giving medication group(MP)	3
Single giving medication group(MN)	1X 105	3
CD34 positivity / CD34 voice	5X104: 5X104	3
Mixed dosage group(MT)		

상기 실험군에 모낭세포를 투여하기 하루 전 칼슘티오글라이코레이트(Sigma, USA)로 실험동물의 잔털들을 제거했고 투여한 후 30일 동안 실험동물의 두피를 관찰하였다. 매일 발모 유도 점수를 구분하여 기록하였고, 실험 시작 전과 종료시점에 동물의 체중을 측정하고, 실험 종료 후 31일째에 부검을 실시하였다.

After the fuzzes of the experimental animals were a day removed to the former *** echo rate (Sigma, USA) to administer the follicular cell to the experimental group and it administered the scalp of the experimental animals was observed for 30. Daily, the hair growth conduction score was classified and it recorded. The weight of animal was measured in the before experiment begin and end-point. The postmortem examination was performed after the experiment end to 31st day.

발모유도점수는 시각적 기준에 의해 발모의 상태에 따라 0점에서 3점까지 평가하였다 (도 1). 또한, 각 실험동물의 상태에 관한 자료의 통계학적 분석을 위하여 원-웨이 ANOVA를 실시하여 군간 유의성을 검정하였고, 유의성이 인정되면 Dunnett#39#s t-test를 실행하여 대조군과 실험군 간의 통계학적 유의성을 검정하였다 (p003c#0.05).

According to the state of the hair growth by the standard the hair growth induction point number visuals, it evaluated in 0 point to the three-point (fig. 1). Moreover, the One-way ANOVA was performed for the Statistical Methods of data about the state of each experimental animals and the significance between the military was authorized. If significance was recognized the Dunnett's t-test was enforced and the statistical significance between the experimental group and the control group were authorized (p003c#0.05).

표 1과 같이 각 그룹별로 실험동물에 투여한 뒤 기록한 발모유도 점수에 따라, 발모효능은 실험개시 24일 이후에 대부분 최대를 나타내었으며, 모낭세포 혼합군인 T3군에서 발모개시효과가 가장 빠르게 나타났다. 또한, 미녹시딜과 혼합투여군(MT)에서도 이와 유사한 효과를 보였으나, 24일 이후의 효능에서는 T3가 월등히 높은 것으로 나타났으며, 모낭 세포 투여 후 14일째, 21일째 및 28일째에서 발모효과를 사진으로 기록하였다 (도2, 도3 및 도4). 또한 세포 투여한 날을 0일로 하였을 때 30일까지 각 개체당 발모유도점수를 기재, 군별 평균값을 산출한 도표는 다음과 같다 (표 3).

The hair growth effect according to the hair growth induction point number, which it records after giving to the experimental animals like the table 1 to each by group is the experimentation start 24, majority, the maximum is shown. And in the follicular cell mixing soldier T3 group, the hair growth onset effect was most rapidly shown. Moreover, in the minoxidil and mixed dosage group (MT), the similar effect was shown from this. But the T3 was high and in the effect of 24 after it had show. And the epilation effect was recorded by the photograph in the follicular cell post-administration 14th day, and 21st day and 28th day (fig. 2, and figures 3 and 4). Moreover, the graph which describes the hair growth induction point number per each entity to 30 when deciding on the day which administered with cell to 0 and turns out by groups average value are as follows (the table 3).

DAY	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
CONTROL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CD34 POSITIVE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MIXED DOSAGE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

