



Original Article

Docosahexaenoic acid의 모유두세포 증식 효능 및 기전

고지연^{1,#}, 오일중^{1,#}, 강정일¹, 최윤경¹, 윤훈석¹, 유은숙¹, 고창익², 안용석²✉

¹제주대학교 의학전문대학원 의학과, ²주식회사 청룡수산 연구소

Effect and mechanism of docosahexaenoic acid on the proliferation of dermal papilla cells by Jiyeon Ko^{1,#}, Il-Joong Oh^{1,#}, Jung-Il Kang¹, Youn Kyung Choi¹, Hoon-Seok Yoon¹, Eun-Sook Yoo¹, Chang-Ik Ko², Yong-Seok Ahn²
(¹Department of Medicine, School of Medicine, Jeju National University, 102 Jejudaehakno, Jeju 63243, Republic of Korea; ²Chung Ryong Fisheries Co. Ltd., 7825 Iljudong-ro, Namwon-epu, Seogwipo, Jeju 63612, Republic of Korea)

Abstract Docosahexaenoic acid (DHA), a principal of mackerel-derived fermented fish oil, increases the proliferation of dermal papilla cells (DPCs) via the upregulation of cell cycle-associated proteins such as cyclin D1 and cdc2 p34, and might promote hair-growth. However, the intracellular mechanisms that underlie the action of DHA in the proliferation of DPCs have not been investigated fully. In this study, we addressed the action mechanisms of DHA to trigger the activation of anagen in DPCs. DHA activated β -catenin signaling by the increased phosphorylation at serine 552 and serine 675 as well as the translocation and accumulation of activated β -catenin into the nucleus. In the other hand, DHA inhibited canonical TGF- β /Smad signaling by the decreased phosphorylation of Smad2/3. Taken together, the results indicate that DHA might stimulate anagen signaling via the activation of Wnt/ β -catenin pathway, while the inactivation of canonical TGF- β signaling pathway in DPCs.

Key words: Docosahexaenoic acid, Dermal papilla cells, Wnt/ β -catenin pathway, TGF- β pathway

서 론

인간의 머리카락은 성장기(anagen), 퇴행기(catagen) 및 휴지기(telogen)의 모발주기를 갖는다.¹⁾ 모발주기는 모낭 내의 인접하고 있는 모유두(dermal papilla cells; DPC), 진피초(dermal sheath cells), 줄기세포, hair germ 세포들 사이의 상호작용에 의하여 조절된다.¹⁾

탈모는 모낭의 축소화 및 성장기 모낭의 감소 등의 특징을 수반한다. 유전적인 요인 이외에도 노화, 스트레스, 호르몬 불

균형, 약물 및 영양 부족 등 다양한 후천적 요인에 의해 발생한다.²⁻⁵⁾ 대표적인 탈모 치료제로는 미국의 식품의약국(Food and Drug Administration; FDA)의 승인을 받은 finasteride (PROPECIA[®])와 minoxidil (Rogain[®])이 있다. Finasteride와 minoxidil은 각각 전립선 비대증 및 고혈압 치료를 위해 개발되었으나, 두 약물 모두 모발성장을 촉진하는 효능이 밝혀져 발모제로 이용되고 있다.^{6,7)} Finasteride는 type II 5 α -reductase의 활성을 억제하여 testosterone (T)이 dihydrotestosterone (DHT)로의 전환을 저해함으로써 안드로겐성 탈모를 개선함이 알려져 있다.⁶⁾ Minoxidil은 모낭 내 증배엽유래 세포인 모유두 세포의 apoptosis를 억제하여 모유두세포의 증식을 촉진하며,⁸⁾ ATP-sensitive potassium channel (K_{ATP} 채널) 개방효과^{9,10)} 및 Wnt/ β -catenin 경로의 활성화 등이¹¹⁾ 육모효과를 유도하는 것으로 여겨지고 있다. 탈모 기전에 관여하는 많은 조절 인자들에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 특히 성

Received: October 24, 2019; Revised: November 11, 2019; Accepted: November 13, 2019

#제1저자: 고지연과 오일중은 본 연구에 동일하게 기여하였음

✉ Correspondence to : Yong-Seok Ahn
Chung Ryong Fisheries Co. Ltd., 7825 Iljudong-ro, Namwon-epu,
Seogwipo, Jeju 63612, Republic of Korea
Tel: 82-10-9458-3528
E-mail: ecoil@hanmail.net

장기, 퇴행기, 휴지기의 모발주기에 관련된 인자들 (fibroblast growth factor-7, Sonic hedgehog 및 transforming growth factor β)과 그들의 수용체에 의한 신호전달에 의해 육모효과가 조절됨이 계속적으로 보고되고 있다.¹²⁾ 특히, TGF- β 신호전달 경로는 모낭형성 및 모발주기의 조절에서 중요한 역할을 함이 알려져 있다.¹³⁾ 모낭 내 세포들은 TGF- β 수용체를 발현하며, 마우스에 TGF- β 1 투여는 이른 시기에 퇴행기로 진행을 유도한다.^{14,15)} 세포의 TGF- β 수용체에 TGF- β 1 결합에 의해 인산화된 Smad 2 및 Smad3는 Smad4와 복합체를 형성하며, 세포핵 내로 이동 후 세포주기의 negative regulator인 p21의 발현을 유도함이 알려져 있다.^{15,16)} TGF- β 1은 여러 종류의 세포들 (epithelial cells 및 breast cancer cells)에서 세포의 성장을 저해함이 또한 잘 알려져 있다.^{17,18)}

최근에 고등어 발효유가 모발의 성장기를 촉진하는 효능이 있으며, 그 주요성분인 docosahexaenoic acid (DHA)가 모유두 세포의 성장증식을 촉진하는 효능이 있음이 보고되었다.¹⁹⁾ 그러나 DHA의 모유두 증식기전을 비롯한 모낭 성장기 유도 기전에 대한 연구보고는 미미하다. 그래서 본 연구에서는 모유두 세포를 이용하여 DHA가 퇴행기를 유도하는 TGF- β 신호전달 경로를 조절하는지, 또한 성장기를 유도하는 Wnt/ β -catenin 경로가 활성화 되는지 조사하여 DHA를 탈모치료 및 탈모예방에 이용할 수 있는 근거를 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

세포배양

본 연구에서는 쥐의 코털 모낭에서 유래되어 불멸화된 모유두세포 (Rat vibrissa immortalized DPC)를 아모레퍼시픽 피부과학연구소 (The Skin Research Institute, Amore Pacific Corporation Research and Development Center, Korea)에서 제공받아 실험을 수행하였다. 세포는 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 10% 우태혈청 (fetal bovine serum, Gibco, USA)과 1% penicillin/streptomycin (Gibco, USA)이 포함된 Dulbecco's Minimal Essential Medium (DMEM; Welgene, Korea) 배양액을 사용하여 계대 배양하였다.

세포증식율(WST assay)

모유두세포를 96 well cell culture plate에 1% 우태혈청 (FBS)을 포함하는 배양액 조건하에서 1×10^4 cells/mL의 농도로 24시간 동안 배양하였다. DHA (Sigma-aldrich, USA)를 0,

0.1, 0.5, 1, 5, 10, 20 μ M의 농도로 처리하여 72시간 동안 배양한 후, WST 시약 (DoGen, Korea)을 각 well에 10 μ L씩 첨가하여 2시간 동안 반응하였다. 흡광도는 microplate reader를 사용하여 450 nm의 파장에서 측정하였다.

Western blot 분석

세포를 1×10^5 cells/mL의 농도로 1% 우태혈청이 포함된 배양액 조건하에서 하루 동안 배양하였다. 세포배양액에 최종농도 10 μ M이 되도록 DHA를 처리하였고, 각각 0, 0.5, 1, 3, 6, 24시간 동안 배양한 후, 배양액을 제거하고 차가운 Dulbecco's phosphate-buffered saline (DPBS)로 2회 세척하였다. 이후, PRO-PREP protein extraction solution (iNtRON Biotechnology, Seoul, Korea)를 사용하여 용해시키고, 원심분리 (15,000 rpm, 15 min, 4°C)하여 단백질을 분리하였다. 분리한 단백질은 bovine serum albumin (BSA)을 표준으로 정량하여 polyacrylamide gel에 전기영동하고, polyvinylidene difluoride membrane (PVDF)에 전이시켰다. 전이된 membrane을 5% skim milk로 상온에서 blocking 시킨 후, 1차 항체와 16시간 (4°C) 동안 반응시켰다. 항체반응이 끝난 membrane은 0.1% Tween 20/Tris-buffered saline 용액으로 세척 후, peroxidase-conjugated된 2차 항체와 상온에서 1시간 동안 반응시킨 뒤 Westar nova 2.0 (CYANAGEN, Italia)를 사용하여 ECL 방법을 이용해 X-ray 필름으로 결과를 확인하였다. 밴드는 NIH image software (<http://rsb.info.nih.gov/ij>)를 사용하여 수치화하여 그래프로 나타내었다.

통계분석

대조군과 실험군 사이의 통계적 유의성은 the student's *t*-test를 통하여 검정하였으며, $P < 0.05$ 및 $P < 0.01$ 일 경우에만 두 집단 간의 통계적 유의성을 인정하였다. 통계처리는 Sigma Stat software (Jandel Scientific Software, USA)를 사용하였다.

결 과

DHA의 모유두 세포의 증식 효능

모유두 세포는 모낭의 기저에 위치하는 중배엽 유래 세포로써, 상피세포로 이루어진 모기질 세포 (matrix cells)와의 상호작용을 통해 모발의 형성 및 성장에 중요한 요소로 작용한다고 알려져 있다.^{20,21)} 세포증식능을 측정하기 위해 세포의 미토콘드리아 전자전달계에 존재하는 효소인 dehydrogenase

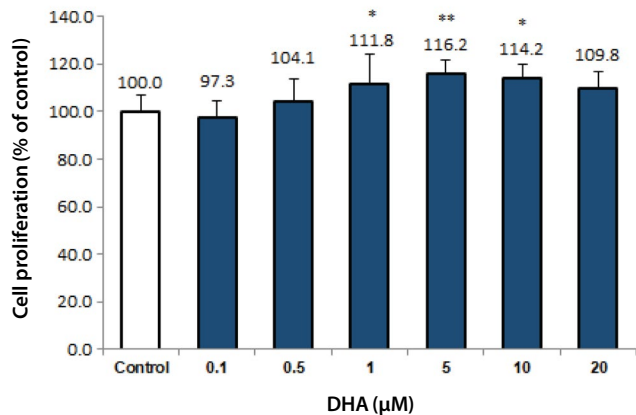


Figure 1. Effect of docosahexaenoic acid (DHA) on the proliferation of DPCs. DPCs were treated with DHA (0.1, 0.5, 1, 5, 10 and 20 μM) for 72 hrs. The results are presented as a percentage of control. Data are expressed as the mean. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

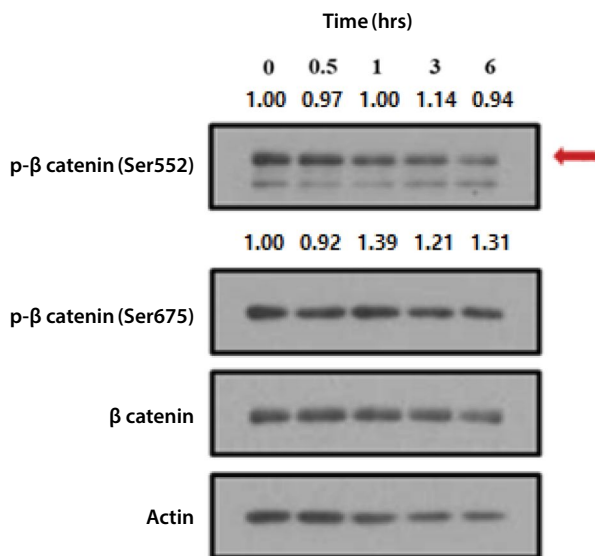


Figure 2. Effect of DHA on the β-catenin activation in DPCs. Immortalized DPCs (1.0×10^5 cells/mL in 100 mm dishes) were pre-incubated for 24 h under 1% serum conditions, the cells were treated with 10 μM DHA for 0.5, 1, 3 and 6 hrs. Whole cell lysates from DPCs were analyzed for the levels of phospho (ser552)-β-catenin, phospho (ser675)-β-catenin and β-catenin by western blot.

와 반응하여 수용성 formazan 생성하는 WST 측정법을 사용하였다. 시료가 포함되어 있지 않은 배양액을 대조군으로 사용하여 비교 분석하였다. DHA를 0.1, 0.5, 1, 5, 10 및 20 μM 농도로 처리하였을 때, 1, 5, 및 10 μM 농도에서 대조군에 비하여 각각 111.8% ($P < 0.05$), 116.2% ($P < 0.01$) 및 114.2% ($P < 0.05$) 모유두 세포 증식이 유의적으로 증가하였다(Fig. 1). 이에 이후의 실험에서 10 μM 농도의 DHA를 실험에 사용

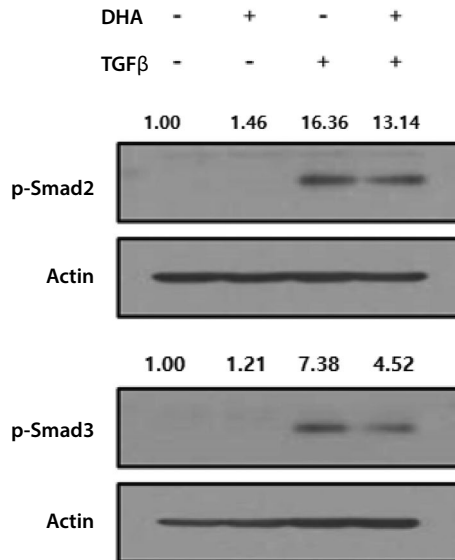


Figure 3. Effect of DHA on the activation of TGFβ signaling pathway in DPCs. DPCs were treated with or without 10 μM DHA for 1 hrs and then treated with TGF-β1 (2 ng/mL) for 1 hrs. Whole cell lysates from DPCs were analyzed for the levels of phospho-Smad2 and phospho-Smad3 by western blot.

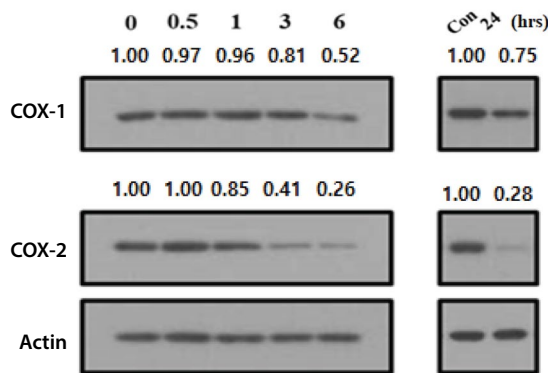


Figure 4. Effect of DHA on the levels of cyclooxygenases (Cox-1 and Cox-2) in DPCs. Immortalized DPCs were pre-incubated for 24 hrs under 1% serum conditions, the cells were treated with 10 μM DHA for 0.5, 1, 3, 6, and 24 hrs. Whole cell lysates from DPCs were analyzed for the levels of Cox-1 and Cox-2 by western blot.

하였다. 이러한 결과를 통하여 DHA가 모유두 세포의 증식을 통해 육모 효능을 나타낼 수 있음을 확인하였다.

DHA의 모유두 세포에서 β-catenin 활성화

Wnt/β-catenin 신호전달 경로는 모발성장, 세포증식 조절에서 중요한 역할을 한다.^{11,22} 또한 β-catenin은 모유두 세포에서 세포증식에 관련된 cyclin D1, c-Myc 등과 같은 표적 유전자의 전사를 활성화시킨다고 알려져 있다.^{23,24} 이에 본 연구

에서는 DHA가 β -catenin의 활성화 형태인 ser552와 ser675 위치의 인산화에 영향을 미치는지 western blot을 통해 관찰하였다. 그 결과, DHA 처리 1시간 또는 3시간 이후부터 시간이 지남에 따라 활성화 형태인 β -catenin ser552와 ser675의 인산화가 증가하는 것이 관찰되었다(Fig. 2).

DHA의 모유두 세포에서 Transforming growth factor- β (TGF- β) 경로 활성화 억제

모발주기 중 성장기에서 퇴행기로의 이행에 관여하는 TGF- β 신호전달 경로를 조절하는지 알아보기 위하여 TGF- β 처리 시 DHA가 Smad 단백질의 인산화에 영향을 미치는지 확인한 결과, TGF- β 만 처리한 군에 비해 TGF- β 와 DHA를 동시에 처리한 군에서 Smad 2/3의 인산화가 감소함을 확인하였다(Fig. 3). 이는 DHA가 모발주기 중 성장기에서 퇴행기로의 이행에 관여하는 TGF- β 신호전달을 조절하여 성장기를 지속시켜 육모효능을 촉진할 수 있음을 보여주는 것이다.

DHA의 모유두 세포에서 cyclooxygenase 발현 조절

Prostaglandin $F_{2\alpha}$ (PGF $_{2\alpha}$) 유사물질인 latanoprost는 녹내장 치료에 사용되고 있는데, 사람의 속눈썹 길이가 길어지는 효능이 보고되었다.²⁵⁾ 또한, 피부 및 모낭에서의 cyclooxygenase-1 (Cox-1) 및 Cox-2의 중요성이 보고되고 있다. DHA가 Cox-1 및 Cox-2의 발현을 조절하는지 western blot 분석으로 확인하였다. 그 결과, 처리 후 3시간부터 Cox-1 및 Cox-2의 발현이 현저히 감소하는 양상을 보였다(Fig. 4).

고찰

모발은 성장기, 퇴행기, 휴지기의 주기를 가지고 있으므로 탈모 방지 효과를 위해서는 모발을 성장시키는 성장기를 유지하거나 모발성장을 멈추고 모낭이 퇴화되는 퇴행기와 휴지기의 기간을 줄임으로써 성장기로의 진행을 촉진하는 것이 필요하다.²⁶⁾ 본 연구에서는 DHA의 탈모 예방 효능 및 그 기전을 조사하였다.

모낭에서의 Wnt/ β -catenin 신호전달 경로는 모발 성장과 세포 증식에서 매우 중요하다.

Wnt/ β -catenin 신호전달 경로는 다양한 인자에 의해 조절되며 특히, Akt의 활성화는 β -catenin의 인산화(ser552) 및 GSK3 β 의 인산화(ser9)를 유도하며, PKA는 β -catenin의 인산화(ser552 및 ser675)를 유도하여 결국 Wnt/ β -catenin 신호전달 경로를 활성화하게 된다.^{23,24,27,28)} 그 이후에 β -catenin

의 안정화 및 세포핵으로의 이동 촉진 등의 과정이 일어나 세포증식에 관련된 cyclin D1, c-Myc 등과 같은 표적 유전자의 발현을 조절하게 된다.^{23,24)} 본 연구에서는 DHA에 의한 β -catenin 경로의 활성화가 관찰되었으며(Fig. 2), 이전의 연구에서 DHA가 모유두세포에서 세포주기 조절인자인 cyclin D1의 발현을 증가시킴이 보고되었다.¹⁹⁾ 이들의 결과를 종합하면, DHA가 Wnt/ β -catenin 신호전달 경로를 활성화하여 β -catenin의 표적유전자 중 하나인 cyclin D1의 발현 증가시킴으로써 모유두 세포의 세포 증식을 증가시키는 것으로 사료된다.

모낭에서의 TGF- β 신호전달 경로는 퇴행기를 촉진시켜 모낭의 발달과 성숙을 방해한다.^{14,15)} TGF- β signaling pathway의 활성화는 세포의 TGF- β 수용체에 TGF- β 의 결합에 의해 일어나며 한편 수용체에 TGF- β 의 결합은 하위 신호전달 인자인 Smad2 및 3의 인산화를 유도한다. 본 연구에서는 TGF- β 1에 의하여 유도되는 Smad2 및 3의 인산화 증가가 DHA에 의하여 감소하는 경향이 확인되었다(Fig. 3). 이는 DHA가 모발주기 중 성장기에서 퇴행기로의 이행에 관여하는 TGF- β 의 canonical 신호전달을 조절하여 성장기를 지속시켜 육모효능을 촉진할 수 있음을 보여주는 것이다. 다른 한편, TGF- β 는 non-Smad 경로인 noncanonical 신호전달 경로로도 세포성장을 조절할 수 있으므로, DHA에 의한 TGF- β 의 noncanonical 경로인 ERK 인산화 및 P21의 발현 등에 대한 연구를 진행하려고 한다. 모발 내의 TGF- β 신호전달의 조절과 관련된 연구에서 흑오미자 추출물은 모낭의 bulge matrix에서 모발주기의 퇴행기 진행시 발현이 증가되는 TGF- β 2의 발현을 감소시켜 C57BL/6 마우스의 모발 성장을 촉진함을 보고하였다.²⁹⁾ 또한 Kim 등은 후박의 성분인 4-O-methylhonokiol이 모낭의 outer root sheath, epithelial strand 및 hair bulb에서 TGF- β 1 또는 TGF- β 2의 발현 감소를 통해 모발 성장을 유도함이 알려져 있다.³⁰⁾ DHA는 대표적인 오메가 3-지방산으로 arachidonic acid와 비슷한 구조를 가지며, 모든세포의 필수 구성 요소로 음식으로 섭취 가능하다. Arachidonic acid는 세포 내 필수 오메가 6-지방산으로서 Cox에 의하여 prostaglandin으로 전환된다. Prostaglandin 중 PGD $_2$ 는 모발 성장을 억제한다고 알려져 있다.³¹⁾ DHA가 COX의 발현을 감소시켜 arachidonic acid의 prostaglandin으로의 전환을 줄여줌으로써 간접적으로 모발성장 억제를 차단하는 것으로 보인다.

결론적으로, DHA는 모유두 세포에서 모낭의 퇴행기로의 이행에 관여하는 TGF- β 신호전달 경로를 억제하고, 모낭의 성장기에 관여하는 Wnt/ β -catenin 신호경로를 활성화한다는 본 연구 결과는 DHA가 탈모치료 및 탈모예방에 이용될 수 있다는 근거를 제시하는 것이다.

감사의 글

이 논문은 2016년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 지역신산업선도인력양성사업 성과임(No. NRF-2016H1D5A1908786).

REFERENCES

- Muller-Rover S, Handjiski B, van der Veen C, Eichmuller S, Foitzik K, McKay IA, et al. Comprehensive guide for the accurate classification of murine hair follicles in distinct hair cycle stages. *J Invest Dermatol* 2001;117:3-15.
- Kaufman KD. Androgens and alopecia. *Mol Cell Endocrinol* 2002;198:89-95.
- Botchkarev VA. Molecular mechanisms of chemotherapy-induced hair loss. *J Invest Dermatol Symp Proc* 2003;8:72-5.
- Batchelor D. Hair and cancer chemotherapy: consequences and nursing care-a literature study. *Eur J Cancer Care (Engl)* 2001;10:147-63.
- Aoki E, Shibasaki T, Kawana S. Intermittent foot shock stress prolongs the telogen stage in the hair cycle of mice. *Exp Dermatol* 2003;12:371-7.
- Kaufman KD, Dawber RP. Finasteride, a Type 2 5alpha-reductase inhibitor, in the treatment of men with androgenetic alopecia. *Expert Opin Investig Drugs* 1999;8:403-15.
- Messenger AG, Rundegren J. Minoxidil: mechanisms of action on hair growth. *Br J Dermatol* 2004;150:186-94.
- 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;34:91-8.
- Hamaoka H, Minakuchi K, Miyoshi H, Arase S, Chen CH, Nakaya Y. Effect of K⁺ channel openers on K⁺ channel in cultured human dermal papilla cells. *J Med Invest* 1997;44:73-7.
- Shorter K, Farjo NP, Picksley SM, Randall VA. Human hair follicles contain two forms of ATP-sensitive potassium channels, only one of which is sensitive to minoxidil. *FASEB J* 2008;22:1725-36.
- Kwack MH, Kang BM, Kim MK, Kim JC, Sung YK. Minoxidil activates beta-catenin pathway in human dermal papilla cells: A possible explanation for its anagen prolongation effect. *J Dermatol Sci* 2011;62:154-9.
- Cotsarelis G, Millar SE. Towards a molecular understanding of hair loss and its treatment. *Trends Mol Med* 2001;7:293-301.
- Paus R, Foitzik K, Welker P, Bulfone-Paus S, Eichmüller S. Transforming growth factor-beta receptor type I and type II expression during murine hair follicle development and cycling. *J Invest Dermatol* 1997;109:518-26.
- Foitzik K, Lindner G, Mueller-Roever S, Maurer M, Botchkareva N, Botchkarev V, et al. Control of murine hair follicle regression (catagen) by TGF-beta1 in vivo. *FASEB J* 2000;14:752-60.
- Li CY, Suardet L, Little JB. Potential role of WAF1/Cip1/p21 as a mediator of TGF-beta cytoinhibitory effect. *J Biol Chem* 1995;270:4971-4.
- Pardali K, Kurisaki A, Morén A, ten Dijke P, Kardassis D, Moustakas A. Role of Smad proteins and transcription factor Sp1 in p21 (Waf1/Cip1) regulation by transforming growth factor-beta. *J Biol Chem* 2000;275:29244-56.
- Park SJ, Yang SW, Kim BC. Transforming growth factor-β1 induces cell cycle arrest by activating atypical cyclin-dependent kinase 5 through up-regulation of Smad3-dependent p35 expression in human MCF10A mammary epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2016;472:502-7.
- Cheng H, Wang S, Feng R. STIM1 plays an important role in TGF-β-induced suppression of breast cancer cell proliferation. *Oncotarget* 2016;7:16866-78.
- Kang JI, Yoon HS, Kim SM, Park JE, Hyun YJ, Ko A, et al. Mackerel-derived fermented fish oil promotes hair growth by anagen-stimulating pathways. *Int J Mol Sci* 2019;19:2770.
- Jahoda CA, Horne KA, Oliver RF. Induction of hair growth by implantation of cultured dermal papilla cells. *Nature* 1984;311:560-2.
- Horne KA, Jahoda CA, Oliver RF. Whisker growth induced by implantation of cultured vibrissa dermal papilla cells in the adult rat. *J Embryol Exp Morphol* 1986;97:111-24.
- Wangefjord S, Brändstedt J, Lindquist KE, Nodin B, Jirstrom K, Eberhard J. Associations of betacatenin alterations and MSI screening status with expression of key cell cycle regulating proteins and survival from colorectal cancer. *Diagn Pathol* 2013;8:10.
- Hedgepeth CM, Conrad LJ, Zhang J, Huang HC, Lee VM, Klein PS. Activation of the Wnt signaling pathway: a molecular mechanism for lithium action. *Dev Biol* 1997;185:82-91.
- Monick MM, Carter AB, Robeff PK, Flaherty DM, Peterson MW, Hunninghake GW. Lipopolysaccharide activates Akt in human alveolar macrophages resulting in nuclear accumulation and transcriptional activity of beta-catenin. *J Immunol* 2001;166:4713-20.
- Johnstone MA, Albert DM. Prostaglandin-induced hair growth. *Surv Ophthalmol* 2002;47:185-202.
- Geyfman M, Plikus MV, Treffeisen E, Andersen B, Paus R. Resting no more: Re-defining telogen, the maintenance stage of the hair growth cycle. *Biol Rev Camb Philos Soc* 2015;90:1179-96.
- Hino S, Tanji C, Nakayama KI, Kikuchi A. Phosphorylation of beta-catenin by cyclic AMP-dependent protein kinase stabilizes beta-catenin through inhibition of its ubiquitination. *Mol Cell Biol* 2005;25:9063-72.
- Brudvik KW, Paulsen JE, Aandahl EM, Roald B, Taskén K. Protein kinase A antagonist inhibits β-catenin nuclear translocation, c-Myc and COX-2 expression and tumor promotion in Apc

- (Min/+) mice. *Mol Cancer* 2011;10:149.
29. Kang JI, Kim SC, Hyun JH, Kang JH, Park DB, Lee YJ, et al. Promotion effect of Schisandra nigra on the growth of hair. *Eur J Dermatol* 2009;19:119-25.
30. Kim SC, Kang JI, Kim MK, Boo HJ, Park DB, Lee YK, et al. The hair growth promoting effect of 4-O-methylhonokiol. *Eur J Dermatol* 2011;21:1012-14.
31. Garza LA, Liu Y, Yang Z, Alagesan B, Lawson JA, Norberg SM, et al. Prostaglandin D2 inhibits hair growth and is elevated in bald scalp of men with androgenetic alopecia. *Science Translational Medicine* 2012;4:126ra34.