

Clitocybin A의 모유두 세포증식 효능

강정일¹ · 김민경¹ · 유은숙¹ · 유익동² · 강희경^{1*}

¹제주대학교 의학전문대학원 약리학교실, ²한국생명공학연구원 화학생물연구센터

Effect of Clitocybin A on the Proliferation of Dermal Papilla Cells

Jung-Il Kang¹, Min-Kyoung Kim¹, Eun-Sook Yoo¹, Ick-Dong Yoo², and Hee-Kyoung Kang^{1*}

¹Department of Medicine, School of Medicine, Jeju National University, 102 Jejudaehakno, Jeju 690-756, Korea

²Chemical Biology Research Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon 305-806, Korea

Abstract – The present study was conducted to evaluate the hair growth-promoting effect of Clitocybin A from mushroom *Clitocybe aurantiaca* with dermal papilla cells (DPCs), which play important roles in the regulation of hair cycle. Clitocybin A significantly increased the proliferation of immortalized rat vibrissa DPCs. Flow cytometry analysis revealed that Clitocybin A promoted cell-cycle progression through G0/G1 to S phase in immortalized rat vibrissa DPCs. In addition, Clitocybin A increased the level of cell cycle proteins such as cyclin D1, phospho-pRB, and phospho-CDK2. To elucidate the molecular mechanisms of Clitocybin A on the proliferation of DPCs, we examined the activation of wnt/ β -catenin signaling which is known to regulate hair follicle development, differentiation and hair growth. Clitocybin A activated wnt/ β -catenin signaling via the increase of phospho(ser552)- β -catenin, phospho(ser675)- β -catenin and phospho(ser9)-GSK3 β . Furthermore, Clitocybin A markedly increased the activation of extracellular signal-regulated kinase (ERK). These results suggest that the Clitocybin A may induce hair growth by proliferation of DPCs via cell-cycle progression as well as the activation of Wnt/ β -catenin signaling and ERK pathway.

Key words – Hair growth, RAF, Dermal papilla cells, Cell cycle, Wnt/ β -catenin, ERK

탈모는 신체 또는 머리부위의 모발이 가늘어지며 감소하는 증상을 말하며, 모낭의 축소화 및 성장기 모낭의 감소 등의 특징을 수반하는 것으로 알려져 있다.^{1,2)} 탈모는 남성과 여성 모두에서 발생하며 미적 관심의 증대 및 탈모 인구의 증가로 치료제의 개발 및 그 기전에 대한 연구가 활발히 진행되고 있지만, 탈모의 원인이 무엇인지는 정확히 알려져 있지 않다.^{1,3)} 현재 탈모방지 및 모발성장을 촉진하는 약물로 미국식품의약국(Food and Drug Administration, FDA)의 승인을 받은 것으로서 finasteride와 minoxidil이 있다. Finasteride는 type II 5 α -reductase의 활성을 억제시키는 물질로서 전립선 비대증 치료제로 개발되었으며, minoxidil은 고혈압 치료를 위한 혈관확장제로 개발되었으나, 두 약물 모두 모발성장을 촉진함이 알려져 발모제로 이용되고 있다.^{4,5)} Minoxidil의 작용기전은 명확히 밝혀지지 않았으나, Wnt/ β -catenin 경로의 활성화⁶⁾ 및 K_{ATP} 채널 개방효과^{7,8)} 등이 발모효과를 유도하는 것으로 생각되고 있다. Minoxidil은 또

한 모낭의 기저에 위치한 증배엽 유래의 모유두 세포의 apoptosis를 저해하여 모유두 세포를 증식함이 알려져 있다.⁹⁾

모발성장, 모발재생, 모낭 줄기세포의 활성화 및 hair germ cell의 증식 등의 과정에 Wnt/ β -catenin 신호전달이 중요한 역할을 함이 알려져 있다.¹⁰⁻¹²⁾ Wnt ligand가 수용체에 결합하면 세포질 내의 β -catenin분해가 방지되고 세포핵으로 β -catenin의 이동이 증가하여 타겟 유전자의 발현을 조절하게 된다. 특히, protein kinase A(PKA), Akt 및 glycogen synthase kinase-3 β (GSK3 β) 등의 활성화는 Wnt/ β -catenin 신호전달 경로를 활성화시킴이 보고되어 있다.¹³⁻¹⁵⁾

모유두세포는 모낭내의 여러 종류의 상피세포들과 상호 작용을 하며 모낭의 형성, 모발의 재생 및 모발의 성장에 중요한 역할을 함이 알려져 있다.¹⁶⁾ 특히 모유두세포의 성장 증식 및 apoptosis 억제는 모발의 성장기를 유지하는데 필요함이 보고되어 있다.^{6,8,9)} 세포의 증식은 G0/G1, S 및 G2/M phase로 구성되는 세포주기의 진행과 밀접하게 관련되며, 이러한 세포주기에 관련된 단백질에는 cyclins, cyclin-dependent kinases(CDKs) 및 CDK 억제자 같은 단백질들이

*교신저자(E-mail): pharmkhh@jejunu.ac.kr
(Tel): +82-64-754-3846

있다.¹⁷⁾ 이러한 세포주기 단백질 중 cyclin D1은 세포주기 중 G0/G에서 S phase로 진행될 때에 증가함이 알려져 있고¹⁷⁻²⁰⁾, Wnt/ β -catenin 신호전달 경로의 target gene의 하나로 밝혀져 있다²¹⁾. 한편, mitogen-activated protein kinases (MAPK) 중 extracellular signal-regulated kinases(ERK) 신호전달 경로는 세포성장에서 필수적인 역할을 함이 잘 알려져 있고, ERK의 활성화가 minoxidil에 의한 모유두세포의 apoptosis 저해과정에 관여함을 보고되어 있다.⁹⁾

*Clitocybe aurantiaca*는 피코리큰버섯으로 불리는 국내 자생버섯의 일종으로 9종의 *Clitocybe*속 균주 중 하나이다.²²⁾ Clitocybin A는 *C. aurantiaca* 배양액으로부터 추출 정제된 iso-indolinone계 단일 물질이다.²³⁾ Clitocybin A는 산소 라디칼을 소거하는 항산화 작용, apoptosis 억제, 세포노화 억제 및 세포의 이상증식 억제 등 다양한 효능을 나타냄이 보고되어 있다.²³⁻²⁵⁾ 육상식물 및 해조류에서 육모 효능 연구는 활발히 진행되고 있으나, 버섯 및 그 유래 물질이 육모 및 탈모방지에 미치는 영향에 대한 연구는 아직까지 미미한 실정이다.

본 연구에서는 육모효능에 중요한 역할을 하는 모유두 세포를 이용하여 우리나라에 서식하는 국내자생버섯에서 유래된 Clitocybin A의 육모 효능을 조사하여 이들을 탈모방지제 및 탈모 치료제로 이용할 수 있는 근거를 마련하고자 하였다.

재료 및 방법

시료 - 실험재료인 Clitocybin A는 한국생명공학연구원 화학생물연구센터에서 공급받아 사용하였다. 시료는 dimethyl sulfoxide(DMSO)로 녹여 실험에 사용하였으며, DMSO의 최종 농도는 0.2%를 초과하지 않도록 하였다.

모유두 세포의 배양 - 흰쥐 수염에서 분리된 모유두 세포를 불멸화한 세포(Rat vibrissa immortalized dermal papilla cell)²⁶⁾는 (췌아모레퍼시픽 피부과학연구소로부터 제공받았다. 모유두 세포를 100 units/ml penicillin-100 μ g/ml streptomycin(Gibco Inc, NY, USA)과 10% heat-inactivated fetal bovine serum(FBS; Gibco Inc, NY, USA)이 함유된 DMEM (Hyclone Inc, UT, USA) 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ 항온기에서 배양하였으며, 3일에 한 번씩 계대배양 하였다.

MTT assay - 모유두 세포의 증식은 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) assay를 이용하여 측정하였다.²⁷⁾ 모유두 세포(1.0×10^4 cells/ml)를 1% FBS를 포함한 DMEM 배지에 혼탁하여 96 well plate에 넣고 24시간 배양 후 Clitocybin A(0.001, 0.01, 0.1, 1, 10 및 50 μ M)를 처리하였다. 양성 대조군으로 minoxidil(Sigma, MO, USA)을 10 μ M의 농도로 처리하였다. 4일 동안 배양한 후 2 mg/ml 농도의 MTT(Sigma, MO, USA) 50 μ l씩을

well에 첨가하고 4시간 동안 반응시켰다. 상층액은 제거하고 dimethyl sulfoxide(DMSO) 200 μ l을 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 증식정도를 조사하였다.

세포주기 분석 - 모유두 세포는 1% FBS를 포함하는 DMEM 배지로 24시간 동안 배양한 후에 Clitocybin A (0.001, 0.01, 0.1 μ M) 또는 10 μ M minoxidil을 처리한 다음 24시간 동안 배양하였다. 세포를 수확하고, PBS로 세척한 다음, -20°C에서 30분 동안 70% ethanol로 고정하였다. RNase A(50 μ g/ml) 처리하고, propidium iodide(PI)로 염색한 다음 FACSscan flow cytometer(Becton-Dickinson, San Jose, CA, USA)로 세포주기를 분석하였다.

Western blot analysis - 모유두 세포를 1% FBS를 포함하는 DMEM 배지로 24시간 동안 배양한 후에 Clitocybin A(0.001, 0.01, 0.1 μ M) 또는 10 μ M minoxidil을 처리한 다음 24시간 동안 배양하였다. 세포를 PBS로 2회 세척한 후 200 μ l의 lysis buffer [50 mM Tris-HCl(pH 7.5), 150 mM NaCl, 2 mM EDTA, 1 mM EGTA, 1 mM NaVO₃, 10 mM NaF, 1 mM dithiothreitol(DTT), 1 mM phenylmethylsulfonyl-fluoride(PMSF), 25 μ g/ml aprotinin, 25 μ g/ml leupeptin and 1% NP-40]를 첨가한 다음, 4°C에서 30분 동안 lysis 시켰다. Cell lysate는 15,000 rpm에서 15분 동안 원심분리하여 상층액을 얻었고 실험에 사용전까지 -20°C에 보관하였다. 단백질 농도는 bovine serum albumin(BSA)를 표준물질로 사용하여 Bradford method에 의하여 정량하였다.²⁸⁾ 20-30 μ g의 lysate를 8-12% Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE)로 변성 분리한 다음 polyvinylidene fluoride(PVDF) membranes(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)으로 200 mA에서 2시간 동안 transfer하였다. 그리고 membrane의 blocking은 5% nonfat dried milk가 함유된 Tween-20-TBS(T-TBS)(50 mM Tris, pH 7.6, 150 mM NaCl, 0.1% Tween-20) 용액에서 2시간 동안 실시하였다. Membrane은 여러 단백질의 발현을 조사하기 위해 Cyclin D1(1:1000), phospho-CDK2(1:1000), CDK2(1:1000), Cyclin E(1:2000), phospho(ser780)-pRB(1:1000), phospho-ERK1/2(1:1000), phospho(ser552)- β -catenin(1:1000), phospho(ser675)- β -catenin(1:1000), β -catenin(1:2000), phospho(ser9)-GSK3 β (1:1000), GSK3 β (1:1000) and β -actin(1:5000)에 대한 primary antibody로 4°C에서 overnight 결합시켰다. Secondary antibody는 Horse Radish Peroxidase(HRP)가 결합된 anti-rabbit IgG, anti-mouse IgG를 1:5000으로 희석하여 1시간 동안 상온에서 반응을 진행하였다. 그 다음 T-TBS로 membrane을 3회 세척한 후, ECL 기질(Intron, Seoul, Korea)로 1분 동안 반응시킨 다음 X-ray film(AGFA, Mortsel, Belgium)에 감

광하였다. Band intensities는 NIH Image 소프트웨어를 이용하여 정량하였다(<http://rsb.info.nih.gov/ij/>).

통계분석 - 모든 측정결과는 평균±표준편차로 나타내었으며, 통계학적 유의성 검정은 student's t-test으로 검정하였으며, *p*-value가 0.05 이하일 경우 유의성을 인정하였다. 통계 처리는 Sigma Stat software(Jandel Scientific Software, USA)를 사용하였다.

실험결과 및 고찰

Clitocybin A가 모유두 세포의 성장증식 효능이 있는지 불명확한 모유두 세포를 사용하여 조사하였다. 모유두 세포는 모낭의 기저에 위치하는 중배엽 유래 세포로써, 모기질 세포(matrix cells)와의 상호작용, hair germ을 통한 stem cell 활성화 및 모발의 재생에 중요한 작용을 한다고 알려져 있다.^{12,16,29,30} Clitocybin A를 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10 및 50 μ M 농도로 처리하였을 때, 대조군(100.0±7.1)%에 비하여 각각 116.7±11.3%(*p*<0.001), 115.3±11.7%(*p*<0.001), 112.6±11.5%(*p*<0.01), 110.5±7.9%(*p*<0.01), 100.3±6.5% 및 80.2±6.0% 정도 모유두 세포의 증식이 증가하였다. Clitocybin A(0.001 and 0.01 μ M)의 모유두 세포의 증식 효과는 양성 대조물질로 사용한 10 μ M minoxidil의 115.7±9.9%(*p*<0.001)와 비슷한 증식 증가 효과를 나타내었다(Fig. 1). 반면 50 μ M 이상의 농도에서 Clitocybin A는 세포성장을 억제함을 확인하였다(Fig. 1). 이전 연구에서 Clitocybin A는 5 μ M 이상의 농도에서 platelet-derived growth factor(PDGF)에 의해 유도된 혈관평활근 세포의 증식을 억제함이 밝혀졌다.²⁵ 즉, Clitocybin A는 세포성장을 억제하지 않는 낮은 농도에서 minoxidil 보다 높은 세포증식 효능을 나타냄을 확

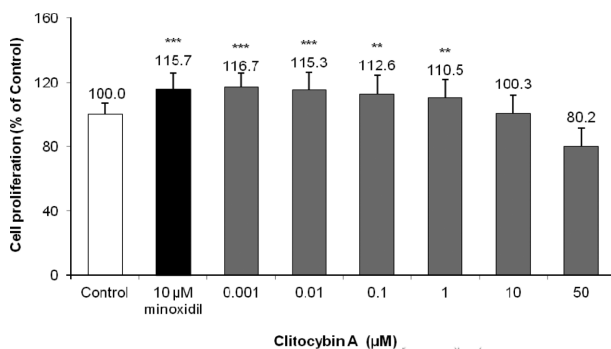


Fig. 1. The effect of Clitocybin A on the proliferation of DPCs. Immortalized DPCs (1.0×10^4 cells/ml) were plated in 96 well plates. Immortalized DPCs were treated with Clitocybin A (0.001, 0.01, 0.1, 1, 10 and 50 μ M). Stimulation with minoxidil served as a positive control. Cell proliferation was 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, ***p*<0.01, ****p*<0.001 vs. vehicle treated control.

인할 수 있었다(Fig. 1). 이러한 결과를 통하여 Clitocybin A가 모유두 세포의 증식을 통해 육포 효능을 나타낼 수 있음을 확인하였다. G0/G1, S 및 G2/M phase로의 cell cycle의 진행과정은 포유류 세포 증식의 주요과정이며,¹⁸⁻²⁰ Clitocybin A가 cell cycle의 진행을 유도하는지 알아보기 위해 DNA에 결합하는 형광물질인 PI를 처리하여 유세포분석기로 조사하였다. 그 결과, Clitocybin A 처리군에서 대조군에 비해 sub G1 phase 세포가 감소하였고 G1 phase 세포 및 G2/M phase 세포가 증가함을 확인할 수 있었다(Fig. 2). Cell cycle의 진행은 cyclin E/CDK2 complex의 활성화, cyclin D1 증가 및 pRB의 인산화 증가등의 단백질 발현을 동반함이 알려져 있다.¹⁸⁻²⁰ 이러한 cell cycle 진행과 관련된 단백질의 발현이 Fig. 2의 결과와 일치하게 변화화하는지 알아보기 위해, cyclin D1, cyclin E, phospho-CDK2, CDK2, phospho (ser780)-pRB의 발현을 조사하였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이, 모유두 세포에 24시간 동안 Clitocybin A(0.001, 0.01 및 0.1 μ M)를 처리하였을 때, cyclin D1, phospho-CDK2 및 phospho (ser780)-pRB의 발현이 유의하게 증가함을 확인할 수 있었다. 그러나 Clitocybin A 처리는 Cyclin E 및 CDK2의 발현에는 영향을 미치지 않음을 관찰할 수 있었다. Minoxidil를 처리하였을 때도 역시 Clitocybin A와 비슷한 결과를 확인할 수 있었다(Fig. 3). Clitocybin A가 모유두세포의 성장 증식을 유도하는 분자적 기전을 밝히기 위해 Wnt/ β -catenin 신호 전달 경로에 관하여 조사하였다. Wnt/ β -catenin 신호전달 경로는 모발성장, 세포증식 조절등의 과정에서 중요한 역할을 하며,^{6,10,31} PKA, Akt 및 GSK3 β 등의 다양한 인자에 의해 조절됨이 알려져 있다. Akt의 활성화는 β -catenin의 인산화(ser552) 및 GSK3 β 의 인산화(ser9)를 유도하며, PKA는 β -catenin의 인산화(ser552 및 ser675)

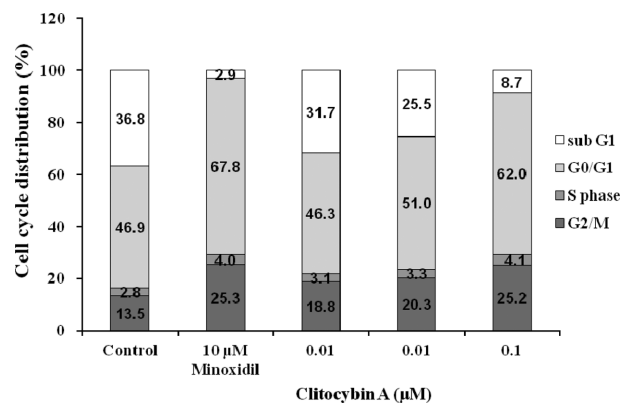


Fig. 2. The effect of Clitocybin A on cell cycle progression in DPCs. Immortalized DPCs were stained with PI after 24 h exposure of Clitocybin A (0.001, 0.01 and 0.1 μ M) or minoxidil (10 μ M). The cell cycle was analyzed by flow cytometry. The percentages of cells in each phase (subG1, G1, S and G2/M) were quantified by CellQuest software.

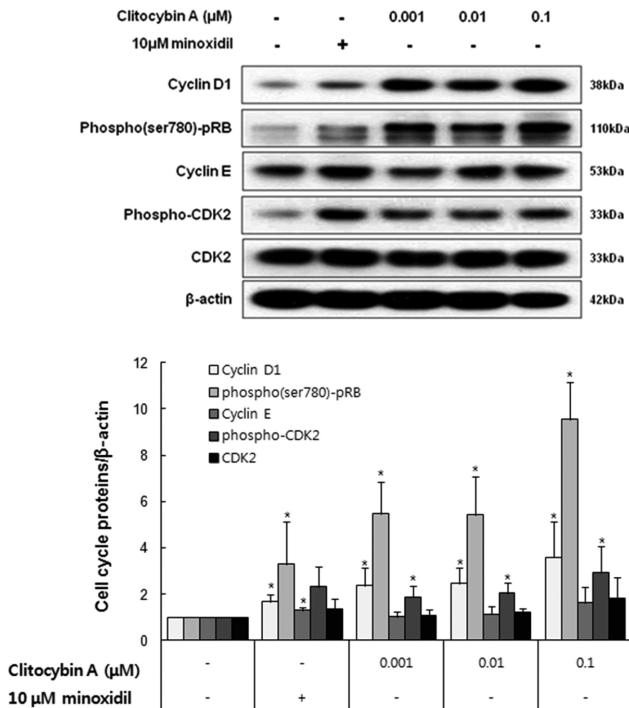


Fig. 3. The effect of Clitocybin A on the level of cell cycle associated proteins in DPCs. Immortalized DPCs were treated with Clitocybin A (0.001, 0.01 and 0.1 μM) or minoxidil (10 μM) for 24 h. The effects of Clitocybin A on the levels of cyclin D1, cyclin E, phospho-CDK2, CDK2 and phospho-pRB were analyzed by immunoblotting.

를 유도하여 세포질 내에서 β-catenin의 분해를 저해하고 안정화를 증가시킨다.^{13,15,32} 그로 인해 β-catenin세포핵으로의 이동이 촉진되고 타겟 유전자의 발현을 조절한다.^{13,15,32} 24시간 동안 Clitocybin A를 처리한 경우, phospho(ser552)-β-catenin, phospho(ser675)-β-catenin, phospho(ser9)-GSK3β의 레벨이 유의하게 증가하였다. 이런 결과로 Clitocybin A가 β-catenin 신호전달 경로를 활성화함을 확인할 수 있었다(Fig. 4). 또한 양성대조 물질인 minoxidil도 Kwack 등의 연구결과와 비슷하게 phospho(ser552)-β-catenin, phospho(ser675)-β-catenin, phospho(ser9)-GSK3β의 레벨을 증가시키는 것으로 β-catenin 신호전달 경로를 활성화함을 확인하였다.⁸⁾ 한편, MAPK 경로 중 하나인 ERK는 성장인자들에 의해 활성화되어 세포 생존 및 성장을 조절하는 것으로 알려져 있으며³³⁾, ERK의 활성화는 세포주기 단백질 중 하나인 cyclin D1의 발현을 증가시킴이 보고되었다.³⁴⁾ 특히, minoxidil에 의한 ERK의 활성화는 모유두세포의 apoptosis 저해와 관련됨이 알려져 있다.⁹⁾ Fig. 5에서 보이는 결과와 같이 모유두세포에 Clitocybin A를 처리하였을 때 phospho-ERK1/2의 레벨이 증가하는 것으로 ERK1/2의 신호전달을 활성화 시킴을 확인하였다. 위와 같은 연구결과로부터 Clitocybin A가 cyclin D1, phospho-CDK2, phospho-pRB

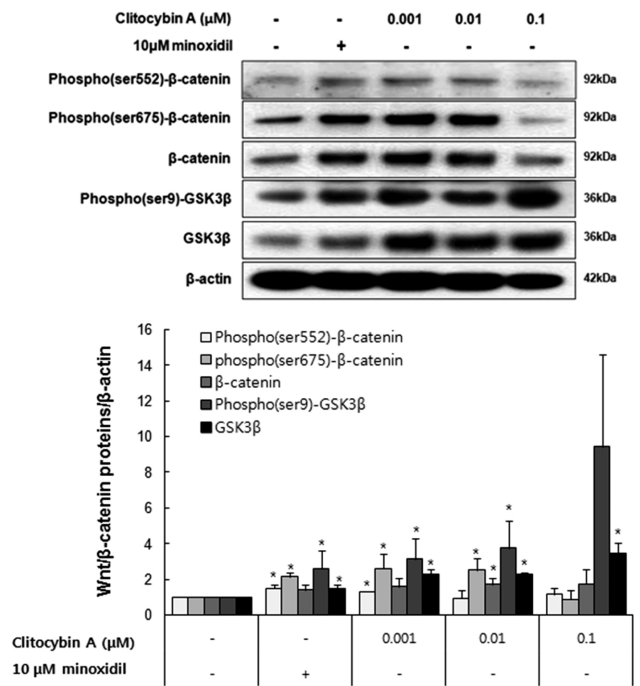


Fig. 4. The effects of Clitocybin A on the level of Wnt/β-catenin signaling proteins in DPCs. Immortalized DPCs were treated with Clitocybin A (0.001, 0.01 and 0.1 μM) and minoxidil (10 μM) for 24 h. The effects of Clitocybin A on the levels of phospho(ser552)-β-catenin, phospho(ser675)-β-catenin, β-catenin, phospho(ser9)-GSK3β, GSK3β were analyzed by immunoblotting.

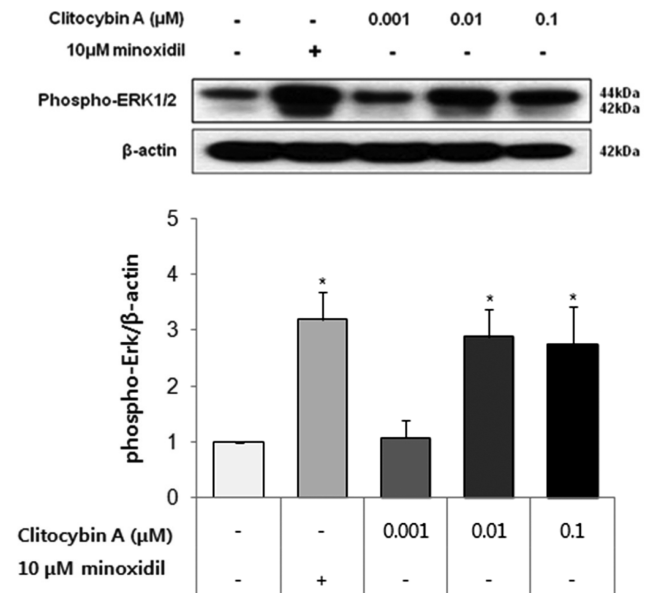


Fig. 5. The effect of Clitocybin A on the level of phospho-ERK1/2 in DPCs. Immortalized DPCs were treated with Clitocybin A (0.001, 0.01 and 0.1 μM) and minoxidil (10 μM) for 24 h. The expression of phospho-ERK1/2 were measured by Western blotting.

같은 세포주기 조절 단백질의 레벨을 증가시킬 뿐만 아니라 Wnt/ β -catenin 신호전달 경로 및 ERK 신호전달 경로의 활성화를 유도하여 모유두 세포의 증식증가 효능을 나타낼 수 있다.

결 론

본 연구에서는 Clitocybin A이 모발의 성장에서 중요한 역할을 하는 모유두 세포에서 cell cycle proteins, Wnt/ β -catenin 및 ERK 신호전달 경로의 활성화를 유도하여 모유두세포의 성장증식을 촉진함을 밝혔다. 이와 같은 연구결과는 Clitocybin A가 탈모치료 및 탈모예방에 이용될 수 있는 가능성을 가지고 있다는 근거를 제시하는 것이다.

사 사

이 논문은 2014학년도 제주대학교 학술진흥연구비 지원 사업에 의하여 연구되었음.

인용문헌

- Price, V. H. (1999) Treatment of hair loss. *N. Engl. J. Med.* **341**: 964-973.
- Ellis, J. A., Sinclair, R. and Harrap, S. B. (2002) Androgenetic alopecia: pathogenesis and potential for therapy. *Expert. Rev. Mol. Med.* **4**: 1-11.
- Cotsarelis, G. and Millar, S. E. (2001) Towards a molecular understanding of hair loss and its treatment. *Trends Mol. Med.* **7**: 293-301.
- Kaufman, K. D. and Dawber, R. P. (1999) Finasteride, a Type 2 5 α -reductase inhibitor, in the treatment of men with androgenetic alopecia. *Expert. Opin. Investig. Drugs.* **8**: 403-415.
- Kaufman, K. D. (2002) Androgens and alopecia. *Mol. Cell Endocrinol.* **198**: 89-95.
- Kwack, M. H., Kang, B. M., Kim, M. K., Kim, J. C. and Sung, Y. K. (2011) Minoxidil activates beta-catenin pathway in human dermal papilla cells: A possible explanation for its anagen prolongation effect. *J. Dermatol. Sci.* **62**: 154-159.
- Hamaoka, H., Minakuchi, K., Miyoshi, H., Arase, S., Chen, C. H. and Nakaya, Y. (1997) Effect of K⁺ channel openers on K⁺ channel in cultured human dermal papilla cells. *J. Med. Invest.* **44**: 73-77.
- Shorter, K., Farjo, N. P., Picksley, S. M. and Randall, V. A. (2008) Human hair follicles contain two forms of ATP-sensitive potassium channels, only one of which is sensitive to minoxidil. *FASEB J.* **22**: 1725-1736.
- Han, J. H., Kwon, O. S., Chung, J. H., Cho, K. H., Eun, H. C. and Kim, K. H. (2004) Effect of minoxidil on proliferation and apoptosis in dermal papilla cells of human hair follicle. *J. Dermatol. Sci.* **34**: 91-98.
- Ouji, Y., Yoshikawa, M., Moriya, K. and Ishizaka, S. (2007) Effects of Wnt-10b on hair shaft growth in hair follicle cultures. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **359**: 516-522.
- Ito, M., Yang, Z., Andl, T., Cui, C., Kim, N., Millar, S. E. and Cotsarelis, G. (2007) Wnt-dependent de novo hair follicle regeneration in adult mouse skin after wounding. *Nature* **447**: 316-320.
- Greco, V., Chen, T., Rendl, M., Schober, M., Pasolli, H. A., Stokes, N., Dela Cruz-Racelis, J. and Fuchs, E. (2009) A two-step mechanism for stem cell activation during hair regeneration. *Cell Stem Cell* **4**: 155-169.
- Hedgepeth, C. M., Conrad, L. J., Zhang, J., Huang, H. C., Lee, V. M. and Klein, P. S. (1997) Activation of the Wnt signaling pathway: a molecular mechanism for lithium action. *Dev. Biol.* **185**: 82-91.
- Hino, S., Tanji, C., Nakayama, K. I., and Kikuchi, A. (2005) Phosphorylation of beta-catenin by cyclic AMP-dependent protein kinase stabilizes beta-catenin through inhibition of its ubiquitination. *Mol. Cell. Biol.* **25**: 9063-9072.
- Monick, M. M., Carter, A. B., Robeff, P. K., Flaherty, D. M., Peterson, M. W. and Hunninghake, G. W. (2001) Lipopolysaccharide activates Akt in human alveolar macrophages resulting in nuclear accumulation and transcriptional activity of beta-catenin. *J. Immunol.* **166**: 4713-4720.
- Stenn, K. S. and Paus, R. (2001) Controls of hair follicle cycling. *Physiol. Rev.* **81**: 449-494.
- Johnson, D. G. and Walker, C. L. (1999) Cyclins and cell cycle checkpoints. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **39**: 295-312.
- Sherr, C. J. (1996) Cancer cell cycles. *Science* **274**: 1672-1677.
- Sherr, C. J. and Roberts, J. M. (1999) CDK inhibitors: Positive and negative regulators of G1-phase progression. *Genes Dev.* **13**: 1501-1512.
- Prall, O. W., Sarcevic, B., Musgrove, E. A., Watts, C. K. and Sutherland, R. L. (1997) Estrogen-induced activation of Cdk4 and Cdk2 during G1-S phase progression is accompanied by increased cyclin D1 expression and decreased cyclin-dependent kinase inhibitor association with cyclin E-Cdk2. *J. Biol. Chem.* **272**: 10882-10894.
- Tetsu, O. and McCormick, F. (1999) Beta-catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells. *Nature* **398**: 422-426.
- Han, S. K., Cho, J. W., Cho, H. J., Kim, H. J. and Lee, Y. M. (2013) A field guide to mushrooms. 2th Ed. Korea national arboretum, Hwang TS, pp. 386-393. Geobook, Seoul
- Kim, Y. H., Cho, S. M., Hyun, J. W., Ryoo, I. J., Choo, S. J., Lee, S., Seok, S. J., Hwang, J. S., Sohn, E. D., Yun, B. S., Bae, K. H. and Yoo, I. D. (2008) A new oxidant, clitocybin A, from the culture broth of *Clitocybe aurantiaca*. *J. Antibiot.*

- 61: 573-576.
24. Moon, E. Y., Kim, Y. H., Ryoo, I. J. and Yoo, I. D. (2009) Clitocybins, novel isoindolinone free radical scavengers, from mushroom *Clitocybe aurantiaca* inhibit apoptotic cell death and cellular senescence. *Biol. Pharm. Bull.* **32**: 1689-1694.
 25. Park, E. S., Yoo, K. D., Kang, S. I., Yoo, S. H., Won, H. H., Kim, Y. H., Yoo, I. D., Yoo, H. S., Hong, J. T. and Yun, Y. P. (2012) Clitocybin A, a novel isoindolinone, from mushroom *Clitocybe aurantiaca*, inhibits cell proliferation through G1 phase arrest by regulating PI3K/Akt cascade in vesicular smooth muscle cells. *J. Pharmacological Sci.* **118**: 171-177.
 26. Filsell, W., Little, J. C., Stones, A. J., Granger, S. P. and Bayley, S. A. (1994) 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.* **107**: 1761-1772.
 27. Carmichael, J., DeGraff, W. G., Gazdar, A. F., Minna, J. D. and Mitchell, J. B. (1987) Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res.* **47**: 936-942.
 28. Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**: 248-254.
 29. Jahoda, C. A., Horne, K. A. and Oliver, R. F. (1984) Induction of hair growth by implantation of cultured dermal papilla cells. *Nature* **311**: 560-562.
 30. Horne, K. A., Jahoda, C. A. and Oliver, R. F. (1986) Whisker growth induced by implantation of cultured vibrissa dermal papilla cells in the adult rat. *J. Embryol. Exp. Morphol.* **97**: 111-124.
 31. Wangefjord, S., Brändstedt, J., Ericson Lindquist, K., Nodin, B., Jirstrom, K. and Eberhard, J. (2013) Associations of beta-catenin alterations and MSI screening status with expression of key cell cycle regulating proteins and survival from colorectal cancer. *Diagn. Pathol.* **8**: 10.
 32. Brudvik, K. W., Paulsen, J. E., Aandahl, E. M., Roald, B. and Taskén, K. (2011) Protein kinase A antagonist inhibits β -catenin nuclear translocation, c-Myc and COX-2 expression and tumor promotion in Apc(Min/+) mice. *Mol. Cancer.* **10**: 149.
 33. Chuang, S. M., Wang, I. C. and Yang, J. L. (2000) Roles of JNK, p38 and ERK mitogen-activated protein kinases in the growth inhibition and apoptosis induced by cadmium. *Carcinogenesis* **21**: 1423-1432.
 34. Lavoie, J. N., L'Allemain, G., Brunet, A., Muller, R. and Pouyssegur, J. (1996) Cyclin D1 expression is regulated positively by the p42/p44MAPK and negatively by the p38/HOGMAPK pathway. *J. Biol. Chem.* **271**, 20608-20616.
- (2014. 11. 28 접수; 2014. 12. 22 심사;
2014. 12. 24 게재확정)