

## Antioxidant Activity of Cannabidiol (CBD) and Effect on Its Proliferation in Human Dermal Papilla Cells

Soo Hyun Kim<sup>1</sup>, Kyu-Sang Sim<sup>1</sup>, Jung Yoon Cheon<sup>1</sup>, Jae-Woong Jang<sup>1</sup>, Su Jin Jeong<sup>1</sup>, Ye Hei Seo<sup>1</sup>, Hye Myoung Ahn<sup>1</sup>, Bong-Geun Song<sup>1</sup>, Gi-Seok Kwon<sup>2</sup> and Jung-Bok Lee<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Kyochon F&B Co., LTD., Gyeonggi-do 18150, Korea

<sup>2</sup>Department of Horticulture & Medicinal Plant, Andong National University, Andong-si 36729, Korea

<sup>3</sup>BHNBIO CO., LTD., Jincheon-gun 27850, Korea

Received September 15, 2022 / Revised December 30, 2022 / Accepted January 9, 2023

At present, many countries around the world are legalizing cannabis and its products, and research on various treatments using cannabis is being actively conducted. However, the cannabis plant contains other compounds whose biological effects have not yet been established. We investigated the effect of cannabidiol (CBD) on hair growth in human dermal papilla cells (HDPCs). 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonic acid) (ABTS) and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assays were performed to determine the antioxidant activity of CBD. The HDPCs viability of CBD was examined via water-soluble tetrazolium salt (WST-1) assay. The expression of hair-loss-related markers in HDPCs by CBD treatment was analyzed by real-time PCR and western blotting. The DPPH, ABTS radical scavenging activity assay showed that CBD had superior antioxidant activities. In HDPCs, CBD increased cellular proliferation at concentrations without cytotoxicity. It also increased the expressions of fibroblast growth factor 1 (FGF1), fibroblast growth factor 7 (FGF7), vascular endothelial growth factor (VEGF), and insulin-like growth factor (IGF). These results correlated with a decrease in the expression of inhibition-related factors, such as androgen receptor (AR) and transforming growth factor beta 1 (TGF-B1). Moreover, CBD resulted in a significant increase in the phosphorylation of AKT and extracellular signal-regulated kinase (ERK). Therefore, it is suggested that CBD may be a potential remedy for the treatment of alopecia.

**Key words :** Antioxidant, cannabidiol, hemp, human dermal papilla cells, proliferation

### 서 론

최근 현대사회에서는 유전적 요인뿐만 아닌 스트레스, 서구화된 식습관, 노화 등의 다양한 직·간접적인 영향들로 인하여 탈모 인구가 급격하게 증가하고 있으며, 탈모 증상이 남성뿐만 아니라 젊은 여성층에서도 꾸준히 증가하는 추세이다[7, 27, 23].

탈모는 모낭의 감소와 축소 현상이 증가하여 모발의 성장과 탈락이 반복되어지면 발생하게 된다[9]. 모낭은 모근, 모유두, 모기질 세포 등을 포함하고 있으며, 모발의 성장과 영양공급과 밀접한 관계가 있다[4]. 모유두 세포는 모낭의 가장 하단부에 위치하고 있고 모세혈관과 밀접한

관계를 가지고 있어 모낭의 형성 및 성장에 매우 필수적인 역할을 수행한다고 알려져 있다[6, 8]. 또한 모유두 세포는 모발 생성주기를 직접적으로 조절하기 때문에 탈모와 관련된 연구에서 주로 활용되고 있다.

현재 탈모를 치료하기 위하여 미국 Food and Drug Administration (FDA)의 승인을 받은 약물치료제는 모발의 성장을 유도하는 minoxidil과 남성형 탈모에 직접적인 영향을 미치는 dihydrotestosterone (DHT) 활성 억제를 통하여 탈모를 지연시키는 finasteride가 있다[11, 20]. 그러나 이러한 치료제는 국내외적으로 널리 사용하고 있지만 어지럼증, 알러지성 피부염, 성기능 저하, 불임 등 다양한 부작용이 보고되어져 있다[21]. 그래서 기존의 탈모 치료제에 비해 부작용이 적고 효과적으로 치료할 수 있는 안전한 치료제의 개발이 필요한 실정이다.

대마(*Cannabis sativa* L.)는 삼과(Cannabaceae)에 속하는 1년생 초본 식물로서 중앙아시아가 원산지로 알려져 있고 전 세계적으로 분포되어 있다. 해외에서는 대마의 함유된 물질 중 환각성분으로 알려진 테트라히드로칸나비놀(delta-9tetrahydrocannabinol: THC)의 함량에 따라 헵

#### \*Corresponding author

Tel : +82-2-2135-9790, Fax : +82-2-2135-9794

E-mail : bio91@hanmail.net

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

프(hemp)와 마리화나(marihuana)로 구분되고 있다. 헴프는 THC 함량이 0.3% 이하로 산업용으로 활용되고 있으며, THC 함량 5-20% 이상인 마리화나는 이용하는데 제한을 하여 구분하고 있다[13]. 현재까지 알려진 대마의 화합물은 약 400개 가량에 이르고 대부분이 칸나비노이드(cannabinoids), 페놀성분(phenol), 테르펜(terpene) 등이 있으며, 이 중 대마의 주요 유효성분으로 알려져 있는 칸나비노이드는 약 90여 가지의 성분이 밝혀져 있다[29].

대마의 주요 활성 성분으로 알려진 칸나비디올(Cannabidiol: CBD)은 높은 활성을 갖지만 THC처럼 향정신작용은 없으며, 미국 FDA 의료용 사용을 승인 받은 상태이다 [1, 5]. CBD 성분 의약품인 에피디올렉스(Epidiolex)는 뇌전증(드라벳, 레녹가스트증후군)의 치료제로 개발되어져 있고, 주요 활성 물질로 CBD가 함유된 의약품인 사티벵스(sativex), 세사멧(cesamet), 마리놀(marinol)이 판매되고 있다[28]. 또한 CBD의 약리학적 연구가 활발히 진행중에 있으며, 항염증 효과[25], 간 손상 보호효과[22] 및 항당뇨 효과[30] 등 다양한 연구 결과가 보고되어져 있다.

선행연구를 조사해본 결과, CBD의 탈모증에 미치는 영향을 연구한 논문은 Testosterone 및 PMA로부터 유도된 탈모증에 대한 CBD의  $\beta$ -Catenin 경로의 조절 효과에 대하여 발표되어 있으나[24], 본 저자는 CBD의 모유두 세포에 미치는 영향에 대하여 연구하고자 진행하였다. 이에 모유두 세포에서 대마의 유용성분인 CBD의 유의한 세포 증식 및 성장 효과를 얻었기에 보고하고자 하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 재료

시험물질로 사용된 CBD는 Averix Bio (Wilson, NC, USA)로 부터 구입하였고, 양성대조물질인 Minoxidil은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)로 부터 구입하여 사용하였다. 시험물질들은 dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma-Aldrich, MO, USA)에 적절히 용해한 후 희석하여 실험에 사용하였다.

### DPPH 라디칼 소거 활성 측정

항산화 활성을 측정하는 방법으로 Blosis [3]에 의한 DPPH free radical 소거법을 사용하였다. DPPH 라디칼 소거 활성은 시료 중에 포함된 항산화 물질의 양을 측정하는데 사용되는 대표적인 실험법이다. 일정농도의 시료 100  $\mu$ l과 60  $\mu$ M DPPH 용액을 100  $\mu$ l 넣고 혼합한 후, 암소상태의 실온에서 30분간 반응시켰다. 이 반응액을 UV spectrophotometer (Infinite M200, Tecan, Salzburg, Austria)를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 사용하여 측정하여 산출하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도를 50% 감소시키는 데, 필요한 시료의 양을  $IC_{50}$ 으로 하여 나타내었다.

### ABTS 라디칼 소거 활성 측정

항산화 효능을 비교 평가하기 위하여 ABTS 라디칼 소거활성을 측정하였다[26]. 7 mM ABTS와 2.45 mM Potassium persulfate를 증류수에 녹인 다음 12시간 동안 차광하여 반응시킨 후, 이 반응액을 415 nm에서 ethanol을 이용하여 흡광도 값을  $0.70 \pm 0.02$ 로 보정하였다. ABTS 용액 95  $\mu$ l에 시료 5  $\mu$ l를 첨가하고 15분 동안 반응시킨 후 415 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 세포 배양

인간 모유두 세포(Human dermal papilla cells: HDPCs)는 Promo cell (C-12071, Heidelberg, Germany)로 부터 분양받아 실험에 사용되었으며 10% Fetal bovine serum (FBS, Welgene, Gyeongsan, Korea)와 1% Antibiotic-Antimycotic (Gibco, MA, USA)를 첨가한 low glucose Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM, Hyclone, Logan, Utah, USA)을 배양액으로 배양하였다. 세포는 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 배양하였고, 이후 2일 간격으로 배양액을 교환하였으며 계대배양 시 0.25% trypsin-EDTA을 처리하였다.

### 세포 독성 평가

CBD의 세포 독성을 평가하기 위하여 water soluble tetrazolium salt-1 (WST-1) 측정법인 EZ-Cytox 시약을 사용하였다. 모유두 세포를  $4 \times 10^4$  cells/well이 되게 96 well plate에 분주하고 24시간 동안 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 적응시켰다. 이후 CBD를 농도별로 처리하였고 대조군은 시료를 용해한 DMSO를 사용하였으며 양성대조군은 minoxidil (MNXD)을 사용하여 24시간 더 배양하였다. EZ-Cytox 용액을 well 당 10  $\mu$ l씩 첨가하여 1시간 동안 배양한 후 ELISA plate reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### Real-time PCR

세포 성장과 관련된 주요 분자들의 유전자 발현량을 평가하기 위하여 모유두 세포를 배양하였다. 대조군은 DMSO를 처리하였으며, 양성대조군은 minoxidil 10  $\mu$ M 농도로 처리하였고 CBD는 1  $\mu$ M, 2.5  $\mu$ M, 5  $\mu$ M 농도로 각각 처리하였다. 24시간 배양하여 차가운 PBS로 3번 세척하여 Nucleo spin RNA/Protein kit (MACHEREY-NAGEL, Düren, Germany)을 이용하여 RNA를 분리하였다. 추출한 RNA는 정량하고 High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied biosystems, MA, USA)를 이용하여 매뉴얼에 따라 cDNA를 합성하였다. Primer는 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH; Hs0286624\_g1), fibroblast growth factor 1 (FGF1; Hs01092738\_m1), fibroblast growth factor 7 (FGF7; Hs00940253\_m1), vascular endothelial growth factor A (VEGF; Hs00900055\_m1), insulin like growth fac-

tor-1 (IGF-1; Hs01547656\_m1), androgen receptor (AR; Hs00171172\_m1), transforming growth factor beta 1 (TGF $\beta$  1; Hs00998133\_m1)를 사용하였으며, mRNA 발현량 측정 은 Luna Universal qPCR Master Mix (New England Biolabs, MA, USA)를 사용하여 CFX-96 Real-time PCR System (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)에서 시행하였다.

### Western blot

모유두 세포에 CBD 농도별(1, 2.5, 5  $\mu$ M) 또는 10  $\mu$ M minoxidil을 24시간 동안 처리하여 차가운 PBS로 2회 세척한 후, Nucleo spin RNA/Protein kit (MACHEREY-NAGEL, Düren, Germany)을 이용하여 단백질을 추출하였다. SDS-PAGE를 실행하여 단백질을 분리한 후 0.2  $\mu$ m Trans-Blot Turbo mini PVDF transfer pack (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)으로 단백질을 전이하였다. 비특이적 단백질 결합 부분은 0.1% Tween 20과 5% BSA를 함유한 Tris buffered saline (TBS)에 1시간 동안 반응시켜 blocking 하였다. 제1차 항체 AKT (#4685s, Cell Signaling Technology, MA, USA), phospho-AKT (#4060s, Cell Signaling Technology, MA, USA), ERK (#9102s, Cell Signaling Technology, MA, USA), phospho-ERK (#9101s, Cell Signaling Technology, MA, USA)가 각각 첨가된 용액에서 4 $^{\circ}$ C 냉장고에서 overnight한 후 TBST (0.1% Tween 20 함유한 TBS)로 10분간 3번 세척하였다. 그런 다음 membrane은 제2차 항체 Goat anti-rabbit IgG conjugates horseradish peroxidase가 첨가된 용액을 상온에서 2시간 동안 결합시켜 반응을 한 후 TBST로 5분 동안 3번 세척하였다. 내부표준단백질은  $\beta$ -actin (sc-47778, Santa Cruz Biotechnology, TX, USA)를 사용하였고, Clarity Max Western ECL Substrate 발광시약(Bio-rad, Hercules, CA, USA)을 사용하여 ChemiDoc<sup>TM</sup> MP Imaging System (Bio-rad, Hercules, CA, USA)을 이용하여 표적 단백질의 발현을 측정하였다. Band는 Image J

software (Version v1.32j, National Institute of Health)를 통해 정량화한 후 나타냈다.

### 통계분석

모든 실험은 최소 3회 반복하였고 데이터는 평균 $\pm$ 표준 편차(S.D.)로 표현하였다. 평균은 SPSS 26 (SPSS Inc, Armonk, NY, USA)를 이용한 One-way analysis of variance (ANOVA) test를 실시한 후, least-significant difference (LSD) test 사후검정을 하여 각 군의 평균값 차이에 대한 통계적 유의성을  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ 에서 나타내었다.

## 결과 및 고찰

### CBD의 항산화 활성 효과

CBD의 항산화 활성을 확인하기 위하여 DPPH, ABTS 라디칼 소거 활성 실험법을 이용하여 평가하였다. DPPH 및 ABTS 실험법은 각각 다른 원리를 이용하여 라디칼을 소거하기 때문에 2가지 실험방법을 이용하여 항산화 활성을 측정하였다[18]. 대표적인 항산화 물질로 알려진 L-ascorbic acid를 양성대조군으로 사용하였다. DPPH 라디칼 소거능을 측정된 결과, 양성대조군인 L-ascorbic acid의 IC<sub>50</sub>값은 16.62 $\pm$ 0.13  $\mu$ M으로 나타났고, CBD의 IC<sub>50</sub>값은 15.46 $\pm$ 0.24  $\mu$ M로 나타났다(Fig. 1). 또한 ABTS 라디칼 소거능은 L-ascorbic acid의 IC<sub>50</sub>값은 19.32 $\pm$ 0.57  $\mu$ M이고, CBD의 IC<sub>50</sub>값은 13.90 $\pm$ 0.06  $\mu$ M로 나타났다(Fig. 2). 인체 내 대사과정에서 과도하게 생성된 활성산소는 세포 손상, 염증 유도 등 부정적인 영향을 미친다고 알려져 있다[2]. 또한 이러한 활성 산소들은 모발 생성을 감소시키고, 세포 손상을 일으켜 탈모를 유발하는 주요한 요인으로 알려져 있다[17]. 따라서 CBD는 뛰어난 라디칼 소거 활성을 나타내었으며, 이를 바탕으로 CBD는 활성 산소로부터 세포 손상을 방지하는 효과를 기대할 수 있다고 판단되어진다.

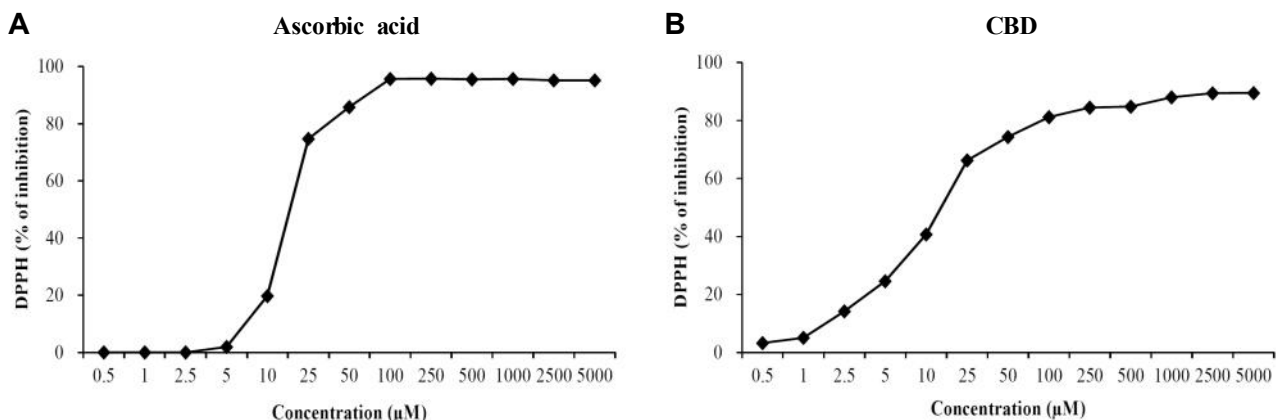


Fig. 1. Scavenging activity of CBD on DPPH free radical. (A) Scavenging activity of L-ascorbic acid against DPPH free radical, (B) Scavenging activity of Cannabidiol against DPPH free radical.

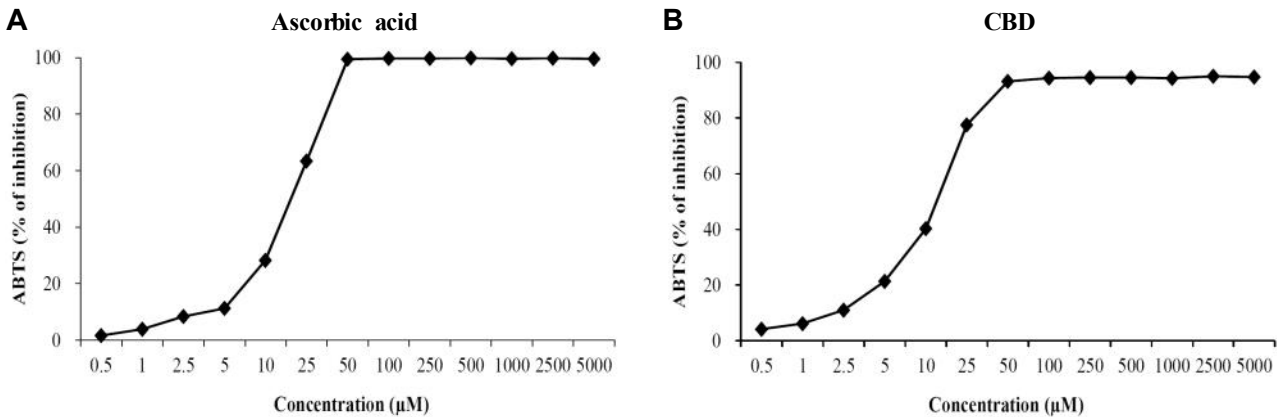


Fig. 2. Scavenging activity of CBD on ABTS free radical. (A) Scavenging activity of L-ascorbic acid against ABTS free radical, (B) Scavenging activity of Cannabidiol against ABTS free radical.

**HDPCs에서 CBD의 cell viability 평가**

최근 모발의 성장과 재생에 밀접한 관련이 있는 모유두 세포의 연구 활발히 진행되고 있으며, 모유두 세포의 증식 및 사멸에 대한 생물학적 메커니즘 연구가 증가하는 추세이다. CBD가 인간 진피 모유두 세포에 미치는 영향을 알아보려고 WST-1법을 이용하여 CBD의 0~100 μM 농도에서 세포 생존율을 측정하였다. CBD 10 μM 이상의 농도 처리 그룹에서는 세포생존률이 80% 이하로 감소하여 세포 독성이 나타났으며, 오히려 CBD 농도 5 μM 이하의 그룹에서는 세포증식능이 증가된 경향을 나타냈다(Fig. 3). 이에 본 실험에서는 모유두 세포에서 세포 독성이 없는 CBD 5 μM 이하 농도를 사용하였다.

**HDPCs에서 CBD의 모발 성장과 관련된 유전자 발현 측정**

CBD의 모발 성장 효능을 확인하기 위하여 real-time PCR를 활용하여 모발 성장 관련 유전자를 평가하였다. 모발의 성장을 자극하여 성장기를 유도하고 상처를 회복하는 과정에서 치유하는 역할인 섬유아세포 성장인자들은 모발의 성장과 밀접한 관계를 가지고 있다[15]. 모유두 세포에서 섬유아세포 성장인자인 FGF1을 측정할 결과, 양성대조군인 minoxidil 처리군은 대조군에 비해 증가하는 경향을 나타내었다. CBD 처리군은 대조군에 비해 2.5 μM 농도에서는 증가하는 경향을 나타냈고, 1 μM와 5 μM 농도 처리군에서는 각각 유의적( $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$ )으로 증가된 발현량을 나타냈다(Fig. 4A).

FGF7은 모발의 배아 및 기질 세포의 증식을 촉진하고

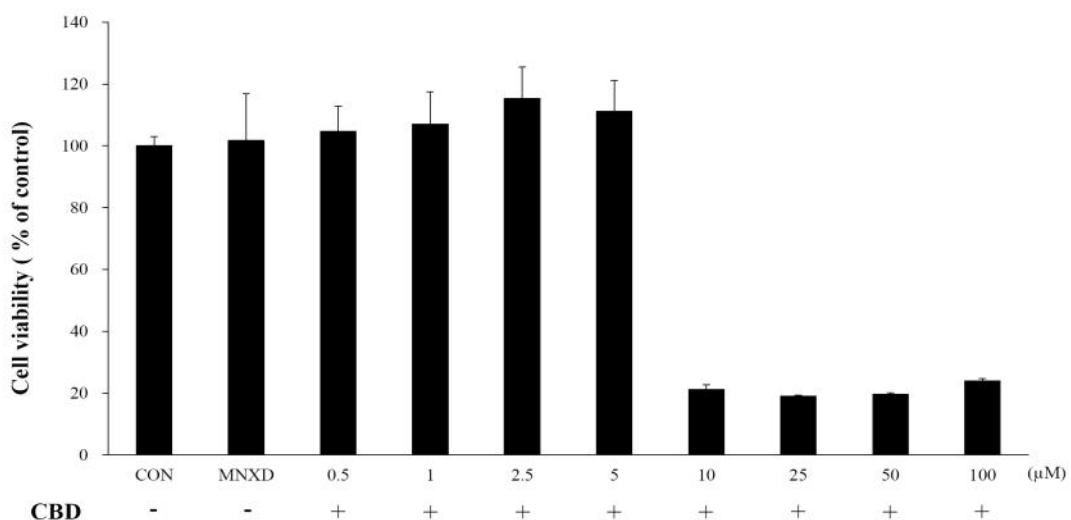


Fig. 3. Effect of CBD on cell proliferation activity in HDPCs. After HDP cells were seeded, the cells were treated for 24 hr with various concentrations of each samples. The cell proliferation was using EZ-Cytox assay. CON: Dimethyl sulfoxide treated group, MNXD: Minoxidil 10 μM treated group, CBD: Cannabidiol treated group. All data are expressed as mean ± S.D of three independent experiments.

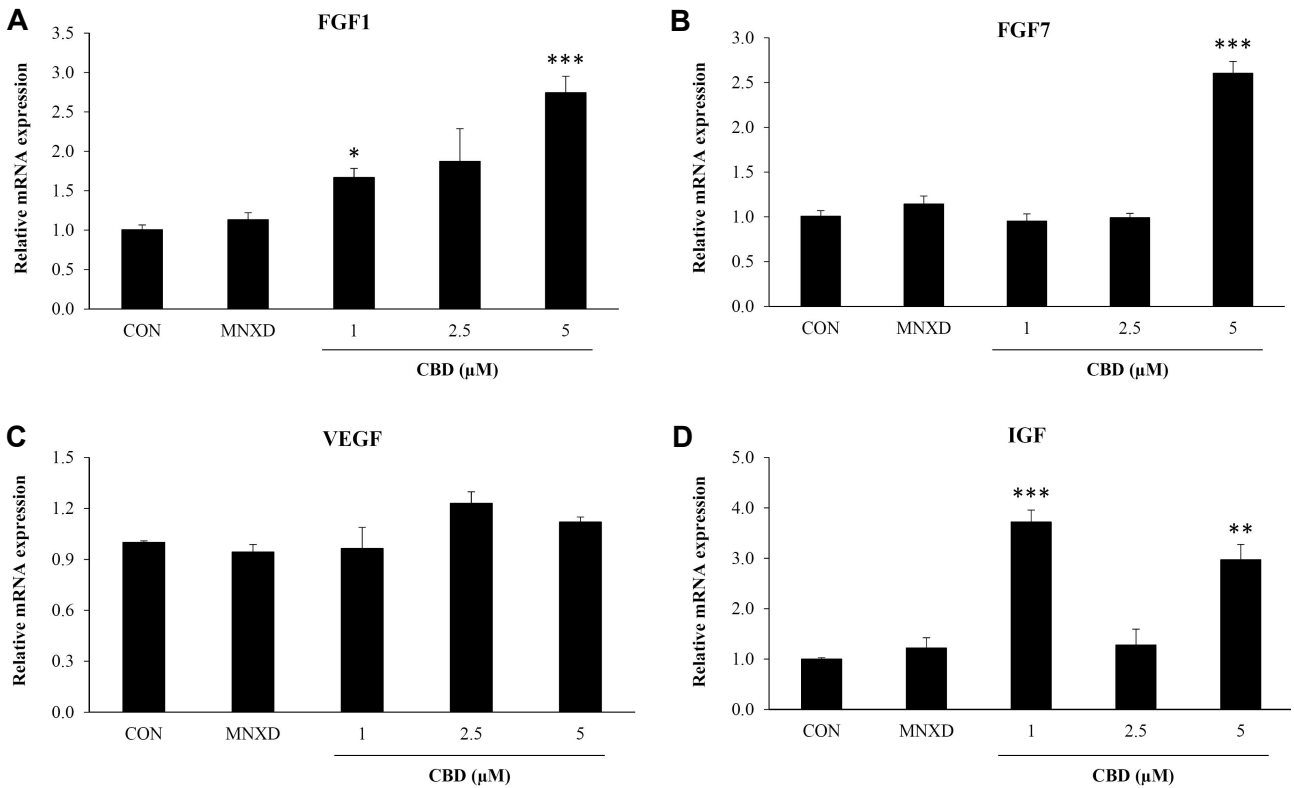


Fig. 4. Effect of CBD on growth related mRNA gene expression in HDPCs. (A) Fibroblast growth factor 1 (FGF1), (B) Fibroblast growth factor 7 (FGF7), (C) vascular endothelial growth factor A (VEGF), (D) Insulin like growth factor-1 (IGF-1). The data were expressed as the mean ± S.D. from three independent experiments (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ ).

모유두 세포에서 새로운 모발 주기를 확인하는 바이오마커로 알려져 있다[16]. 본 실험에서는 모유두 세포에서 FGF7의 발현량을 측정할 결과, minoxidil 처리군과 CBD 1 μM, 2.5 μM 처리군은 대조군과 큰 차이는 없었으나 5 μM 처리군에서는 158.42%로 유의적( $p < 0.001$ )인 큰 증가율을 나타냈다(Fig. 4B).

모유두 세포는 모세혈관을 통하여 모낭에 영양분을 공급한다고 알려져 있다. VEGF는 혈관을 확장시켜 모낭의 성장과정에서 중요한 인자로 대두되고 있으며, 동물실험에서 VEGF가 모낭주위의 혈관을 생성시키는 효과뿐만 아니라 모발의 크기를 증가시키고 성장속도를 촉진시킨다는 연구결과가 보고되어져 있다[32]. VEGF의 발현을 측정할 결과, 대조군에 비해 minoxidil 처리군은 큰 차이가 없었으며, CBD 처리군은 모든 농도에서 유의성은 없으나 증가되는 경향을 나타냈다(Fig. 4C).

또한 인슐린과 비슷한 구조인 IGF-1은 모낭세포의 성장을 촉진시키고, 모유두 세포의 apoptosis를 방지하여 모발 성장에 도움을 주는 인자로 알려져 있다[10]. IGF-1의 발현을 측정할 결과, 대조군에 비해 minoxidil 처리군은 증가된 경향을 나타냈다. CBD 처리군은 2.5 μM 농도에서는 유의성은 없으나 증가된 경향을 나타냈으며, CBD 1 μM과 5 μM 처리군은 각각 유의적( $p < 0.001$ ,  $p < 0.01$ )으로

증가된 결과를 나타냈다(Fig. 4D).

본 연구에서는 CBD의 처리가 모유두 세포에서 성장 조절 인자인 FGF1, FGF7, IGF-1와 VEGF를 모두 대조군에 비해 증가시켰고 양성대조군으로 사용된 minoxidil 처리군 보다 더 높은 증가율을 나타냈다. 이로 인해 CBD는 모발 성장을 증가시키는데 중요한 역할을 할 수 있는 것으로 사료된다.

#### HDPCs에서 CBD의 모발 성장 억제와 관련된 유전자 발현 측정

다음은 CBD의 모발 성장 억제와 관련된 유전자에 미치는 효능을 평가하였다. Androgen receptor (AR)은 모낭의 크기와 수를 감소시키고 모발의 성장주기에서 퇴행기에서 분비가 촉진되며, 세포의 apoptosis를 유도한다고 알려져 있다[14]. AR의 발현을 측정할 결과, 대조군에 비하여 양성대조군인 minoxidil 처리군은 감소하는 경향을 나타냈으며, CBD 처리군은 대조군에 비해 유의적( $p < 0.05$ )으로 감소하였다(Fig. 5A).

또한 TGFβ1은 모발의 성장을 방해하고 세포주기에서 정상보다 퇴행기를 촉진시켜 탈모에 영향을 미치는 인자로 알려져 있다[19]. 모유두 세포에서 TGFβ1의 발현을 측정할 결과, 대조군에 비하여 minoxidil 처리군은 유의적

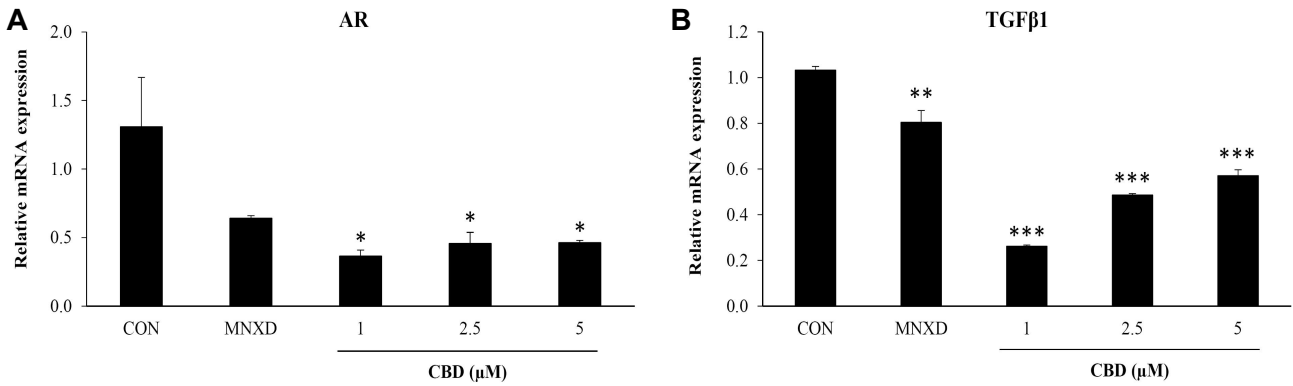


Fig. 5. Effect of CBD on growth inhibition related mRNA gene expression in HDPCs. (A) Androgen receptor (AR), (B) Transforming growth factor beta 1 (TGFβ1). The data were expressed as the mean ± S.D. from three independent experiments (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ ).

로 감소하였다. 또한 대조군에 비하여 CBD 처리군에서는 모두 유의성( $p < 0.001$ ) 있는 감소를 나타냈다(Fig. 5B).

본 연구에서는 CBD를 처리한 군은 모발 성장 억제에 관여하는 인자들이 높은 감소율을 나타냈으므로 CBD가 모발 성장에 긍정적인 영향을 미칠것으로 판단되어진다.

**HDPCs에서 CBD의 모발 성장 조절과 관련된 단백질 발현 측정**

Western blot을 통하여 모발 성장과 관련된 단백질의 인산화에 미치는 영향을 측정하였다. AKT, ERK는 Mitogen-activated protein kinase (MAPK) family로써 성장인자들에 의해 조절되는데 세포 증식 및 세포 내에서 다양한 상호작용하는 역할을 한다[31]. 이러한 모유두 세포 증식에 관

여하는 인자인 p-AKT/AKT의 발현을 측정한 결과, 양성 대조군인 minoxidil 처리군은 대조군에 비해 17.58% 증가하였다. 대조군에 비해 CBD 처리군은 농도별로 각각 16.89%, 39.73%, 45.39%으로 증가함을 나타냈다. 또한 p-ERK/ERK의 발현을 측정한 결과, 양성대조군인 minoxidil 처리군은 대조군에 비해 38.05% 증가하였다. CBD 처리군은 대조군에 비해 농도별로 각각 29.68%, 33.37%, 72.45% 증가하는 경향을 나타냈다(Fig. 6A). 활성화된 AKT와 ERK는 세포 증식에 깊이 관여하며, 또한 인간 모유두 세포의 증식을 유도한다고 알려져 있다[12]. 모유두 세포에서 CBD의 처리는 p-AKT/AKT와 p-ERK/ERK의 단백질 발현량을 증가시키는 경향을 나타냈으며, CBD 고농도 처리군인 5 μM에서는 대조군에 비해 각각 유의적( $p < 0.05$ ,  $p <$

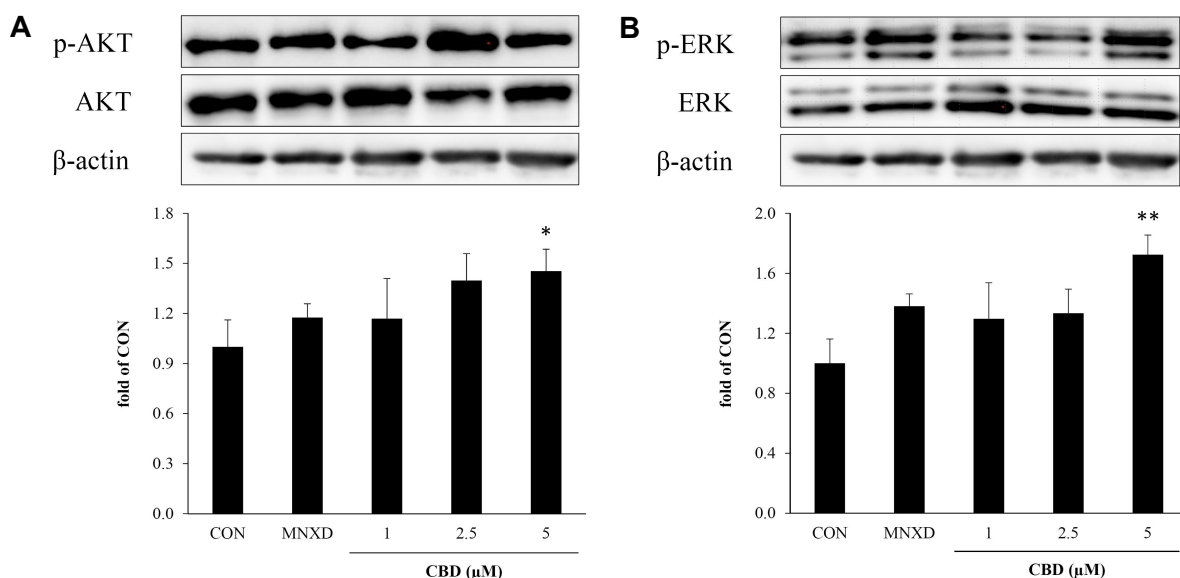


Fig. 6. Effect of CBD on growth related western blotting protein expression in HDPCs. (A) Phospho-AKT (p-AKT), (B) Phospho-extracellular signal-regulated kinase (p-ERK). The data were expressed as the mean ± S.D. from three independent experiments (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ).

0.01)으로 증가된 결과를 나타냈다(Fig. 6B). 따라서, CBD는 모유두 세포에서 AKT 및 ERK 모두 활성화를 증가시킴으로써 모유두 세포의 증식 및 성장에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 확인하였다. 이러한 결과를 통해 CBD는 모발 성장에 도움을 줄 수 있는 소재로써, 향후 CBD는 탈모 관련 질환 개선에 활용될 수 있음을 시사하였다.

### 감사의 글

본 연구는 중소벤처기업부의 규제자유특구혁신사업육성 지원(과제번호 : P0016082)에 의한 연구임.

### The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

### References

- Andre, C. M., Hausman, J. F. and Guerriero, G. 2016. Cannabis sativa: the plant of the thousand and one molecules. *Front. Plant. Sci.* **7**, 19.
- Bailey, A. J., Robins, S. P. and Balian, G. 1974. Biological significance of the intermolecular crosslinks of collagen. *Nature* **251**, 105-109.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1199-1200.
- Choi, S. J., Cho, A. R., Jo, S. J., Hwang, S. T., Kim, K. H. and Kwon, O. S. 2013. Effects of glucocorticoid on human dermal papilla cells *in vitro*. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **135**, 24-29.
- Corroon, J., MacKay, D. and Dolphin, W. 2020. Labeling of cannabidiol products: A public health perspective. *Cannabis Cannabinoid Res.* **5**, DOI: 10.1089/can.2019.0101.
- Cotsarelis, G. 2006. Epithelial stem cells: a folliculocentric view. *J. Invest. Dermatol.* **126**, 1459-1468.
- Do, E. J., Hwang, M. Y., Kim, S. Y., Lee, J. S., Yang, D. S., Yang, C. H. and Kim, M. R. 2011. The effect of Gyungokgo-gamibang extract on hair growth and protein expression in mice. *Kor. J. Herbol.* **26**, 9-14.
- Driskell, R. R., Clavel, C., Rendl, M. and Watt, F. M. 2011. Hair follicle dermal papilla cells at a glance. *J. Cell. Sci.* **124**, 1179-1182.
- Ellis, J. A., Sinclair, R. and Harrap, S. B. 2002. Androgenetic alopecia: pathogenesis and potential for therapy. *Expert Rev. Mol. Med.* **4**, 1-11.
- Greco, V., Chen T., Rendl, M., Schober, M., Pasolli, H. A., Stokes, N., Cruz-Racelis, J. D. and Fuchs, E. 2009. A two-step mechanism for stem cell activation during hair regeneration. *Cell Stem Cell* **4**, 155-169.
- Hagemann, T., Schlütter-Böhmer, B., Allam, J. P., Bieber, T. and Novak, N. 2005. Positive lymphocyte transformation test in a patient with allergic contact dermatitis of the scalp after short-term use of topical minoxidil solution. *Contact Derm.* **53**, 53-55.
- 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.
- Hwang, A. Y. and Pan, Y. H. 2020. A study on the identity direction of Korea medical marijuana service. *J. Kor. Conver. Soc.* **11**, 131-138.
- Hsu, C. L., Liu, J. S., Lin, A. C., Yang, C. H., Chung, W. H. and Wu, W. G. 2014. Minoxidil may suppress androgen receptor-related functions. *Oncotarget* **5**, 2187-2197.
- Kim, Y. J., Seo, K. H., Jang, G. Y., Jung, J. W. and Kim, M. R. 2021. Effect of essential oil from Coicis Semen (ECS) on proliferation of human hair dermal papilla cells. *Kor. J. Herbol.* **36**, 47-53.
- Kinoshita-Ise, M., Tsukashima, A., Kinoshita, T., Yamazaki, Y. and Ohyama, M. 2020. Altered FGF expression profile in human scalp-derived fibroblasts upon WNT activation: implication of their role to provide folliculogenetic micro-environment. *Inflamm. Regen.* **40**, 35.
- Lee, J. S. and Kim, Y. C. 2010. Regular Articles : The promoting effect of *Angelica gigas Nakai* and *Glycyrrhiza uralensis Fischet* oriental medicine complex extracts on hair growth. *J. Cosme. Sci.* **6**, 49-56.
- Lee, S. J., Shin, J. H., Kang, M. J., Jung, W. J., Ryu, J. H., Kim, R. J. and Sung, N. J. 2010. Antioxidant activity of aged red garlic. *J. Life Sci.* **20**, 775-781.
- Lin, W. H., Xiang, L. J., Shi, H. X., Zhang, J., Jiang, L. P., Cai, P. T., Lin, Z. L., Lin, B. B., Huang, Y., Zhang, H. L., Fu, X. B., Guo, D. J., Li, X. K., Wang, X. J. and Xiao, J. 2015. Fibroblast growth factors stimulate hair growth through  $\beta$ -catenin and Shh expression in C57BL/6 mice. *Biomed. Res. Int.* **2015**, 730139.
- McClennan, K. J. and Markham, A. 1999. Finasteride: a review of its use in male pattern hair loss. *Drugs* **57**, 111-126.
- Melcangi, R. C., Caruso, D., Abbiati, F., Giatti, S., Calabrese, D., Piazza, F. and Cavaletti, G. 2013. Neuroactive steroid levels are modified in cerebrospinal fluid and plasma of post-finasteride patients showing persistent sexual side effects and anxious/depressive symptomatology. *J. Sex Med.* **10**, 2598-2603.
- Mukhopadhyay, P., Rajesh, M., Horváth, B., Bátkai, S., Park, O., Tanchian, G., Gao, R. Y., Patel, V., Wink, D. A., Liaudet, L., Haskóe, G., Mechoulam, R. and Pacher, P. 2011. Cannabidiol protects against hepatic ischemia/reperfusion injury by attenuating inflammatory signaling and response, oxidative/nitrative stress, and cell death. *Free Radic. Biol. Med.* **50**, 1368-1381.
- Park, J. Y., Lee, S. D. and Gown, G. H. 2014. A study on the analysis of factor related to alopecia of women in 20-30 years old. *J. Kor. Soc. B&A.* **15**, 53-65.
- Park, Y. J., Ryu, J. M., Na, H. H., Jung, H. S., Kim, B. H., Park, J. S., Ahn, B. S. and Kim, K. C. 2021. Regulatory

- effect of cannabidiol (CBD) on decreased  $\beta$ -catenin expression in alopecia models by testosterone and PMA treatment in dermal papilla cells. *J. Pharmacopuncture* **24**, 68-75.
25. Petrosino, S., Verde, R., Vaia, M., Allarà, M., Iuvone, T. and Di Marzo, V. 2018. Anti-inflammatory properties of cannabidiol, a nonpsychotropic cannabinoid, in experimental allergic contact dermatitis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **365**, 652-663.
26. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* **26**, 1231-1237.
27. Choi, Y. S., Kim, E. M., Lee, S. H., Han, H. S. and Kim, K. K. 2021. Investigation on the effect of water extracts of *Mangifera indica* leaves on the hair loss-related genes in human dermal papilla cells. *Kor. J. Herbol.* **36**, 39-46.
28. Sohn, H. Y., Kim, M. N. and Kim, Y. M. 2021. Current status and prospects for the hemp bioindustry. *J. Life Sci.* **31**, 677-685.
29. Todd, A. R. 1940. Chemistry of the hemp drugs. *Nature* **146**, 829-830.
30. Weiss, L., Zeira, M., Reich, S., Har-Noy, M., Mechoulam, R., Salvin, S. and Gallily, R. 2006. Cannabidiol lowers incidence of diabetes in non-obese diabetic mice. *Autoimmunity* **2039**, 143-151.
31. Wood, L. S. 2010. New therapeutic strategies for renal cell carcinoma. *Urol. Nurs.* **30**, 40-53.
32. Yano, K., Brown, L. F. and Detmar, M. 2001. Control of hair growth and follicle size by VEGF-mediated angiogenesis. *J. Clin. Investig.* **107**, 409-417.

## 초록 : 칸나비디올(CBD)의 항산화 활성 및 인간 모유두 세포 증식에 미치는 영향

김수현<sup>1</sup> · 심규상<sup>1</sup> · 천정윤<sup>1</sup> · 장재웅<sup>1</sup> · 정수진<sup>1</sup> · 서예희<sup>1</sup> · 안혜명<sup>1</sup> · 송봉근<sup>1</sup> · 권기석<sup>2</sup> · 이중복<sup>3\*</sup>  
 (<sup>1</sup>교촌에프앤비, <sup>2</sup>안동대학교 원예·생약융합학부, <sup>3</sup>비에치엔바이오)

최근 세계 여러 나라에서 대마초 및 대마제품을 합법화하고 대마를 이용한 다양한 치료법에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 그러나 대마에는 생물학적 효과가 아직 확립되지 않은 여러 화합물들이 포함되어 있다. 본 연구에서는 인간 모유두 세포(HDPC)의 모발 성장에 대한 칸나비디올(CBD)의 효과를 조사하였다. 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonic acid) (ABTS) 및 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거 분석법을 활용하여 CBD의 항산화 활성을 측정하였다. 모유두 세포에서 CBD의 세포생존률은 WST-1 분석법으로 측정하였다. CBD 처리에 의한 모유두 세포에서 모발 성장과 관련된 인자의 발현은 real-time PCR 및 western blot으로 측정하였다. CBD의 항산화 활성 측정결과, DPPH 및 ABTS 자유 라디칼 소거 활성의 IC<sub>50</sub> 값은 각각 15.46±0.24  $\mu$ M 및 13.90±0.06  $\mu$ M으로 뛰어난 활성 산소 제거능을 나타냈다. CBD 처리군은 대조군에 비해 세포 증식이 증가하는 경향을 나타냈다. 또한 모유두 세포에서 Real-Time PCR과 Western blotting을 통해 모발 성장 관련 인자를 측정된 결과, CBD 처리로 인하여 성장 관련 인자들이 증가하는 것으로 나타났다. 종합적으로, 항산화 활성이 높은 CBD는 모유두 세포에서 세포 증식을 증가시키고 모발 성장 관련 인자들을 긍정적으로 조절합니다. 이러한 결과는 CBD가 탈모증에 대한 잠재적으로 활용될 수 있음을 시사한다.