

천연약제 Momordin의 구강암(KB) 세포주에 대한 항암작용기전에 관한 연구

서경성* · 김여갑

경희대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Abstract

STUDIES ON ANTICANCER EFFECT OF MOMORDIN ON ORAL CARCINOMA (KB) CELLS

Kyeong-Seong Seo, DMD, MSD*, Yeo-Gab Kim, DMD, MSD, PhD.

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Kyung-Hee University.

Treatment of oral cancers with chemotherapeutic agents are evaluated as an effective method for remission to reduce cancer proliferation nowadays. But, minimization of side-effects such as bone marrow suppression, gastrointestinal toxicity and renal damage is another problem to be solved. Thus, a possible approach to develop a clinically applicable chemotherapeutic agents is to screen anti-cancer activity among traditional medicinal plants which have been used for thousands of years with very low side-effects in orient. In this study we focused on anti-oral cancer activities of momordin, which was medicinal plant extracts that was revealed anticancer activities, on KB cell(oral cancer cell).

The results were as follow :

1. Momordin showed the excellent anti-oral cancer activity against KB cells. Obtained IC50 value of Momordin was 10.4 μ g/ml.
2. When KB cells were treated with Momordin, dose and time dependent DNA fragmentation of KB cells were observed. DNA fragmentation was initiated on three days at the concentration of 20 μ g/ml Momordin.
3. Flow cytometry showed dose-dependent apoptotic cell increase of KB cells on Momordin. 18.55% apoptotic cell were observed up to 72 hours at the concentration of 20 μ g/ml of Momordin
4. Momordin induced nonspecific apoptosis without specific cell cycle arrest.
5. Through MTT assay, DNA fragmentation assay and flow cytometric analysis. anticancer effect of Momordin against KB cell was induce of apoptotic cell death.

I. 서 론

구강암은 다른 부위의 암중에 비하여 그 발현빈도는 낮으나 악성도가 높고 현저한 기능적, 심미적 손상과 이에 따른 사회심리학적 장애로 보다 적극적이고 효과적인 치료법의 요구가 절실하다¹⁾.

구강암의 치료방법으로 외과적 수술, 방사선 치료, 화학요법 등이 있으며 이중 전신적 요법으로의 화학요법은 구강암의 치료를 위한 효과적인 방법으로 평가받고 있다²⁾. 화학요법제는 암세포의 각종 대사경로에 개입하여 주로 DNA와 직접 작용하여 DNA의 복제, 전사, 번역과정을 차단하거나 핵산 전구체의 합성을 방해하고 세포분열을 저해함으로써 암세포에 대한 세포독성을 나타내게 된다³⁾. 그러나 골수기능저하, 소화기계 합병증, 신독성 같은 부작용 등이 아직 풀어야할 숙제로 남아 있으며 최근에 들어 상대적으로 부작용이 적으며 항암 효과가 있다고 알려진 천연의 약용식물 중에서 적용 가능한 화학요법제를 찾는 연구들이 있어왔다^{1-3,6,7,18,20)}.

실제 구강암을 치료하기 위해서 고려해야할 사실은 각 암세포는 각종 항암제에 대한 감수성이 각기 다르기 때문에^{3,4)} 적절한 항생제 선택과 임상적 기초를 제시하기 위해서 화학요법제에 대한 감수성 검사는 필수적이다⁴⁾.

구강암에 대한 천연약제의 감수성에 대하여 여러 연구들이 진행되고 있으며 이 등⁵⁾은 인삼사포닌을 이용하여 구강암에 대한 항암활성에 대하여 보고하는 등 천연약제를 이용하여 구강암에 대하여 항암활성을 가지는 물질을 찾고 감수성에 대하여 검사하는 등의 노력들이 최근에 활발히 진행 중에 있다.

Momordin은 전사유전자 단백질인 Jun/ Fos의 AP-1 부위 결합을 저해하는 활성을 가지는 물질을 검색하여 분리된 물질이며 세포증식 억제효과가 있음이 보고되었다⁶⁾. 따라서 본 연구에서는 Momordin의 구강암에서의 항암작용을 확인하고 항암작용기전을 밝히려고 하였다.

서 경 성

130-702, 서울특별시 동대문구 회기동 2
경희대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Kyeong-Seong Seo

Dept. of OMFS, College of Dentistry, Kyunghee University
1. Hoegi-Dong, Dongdaemoon-Gu, Seoul, 130-702, Korea
Tel: 82-2-958-9441 Fax: 82-2-966-4572

E-mail:

II. 연구재료 및 방법

1. 연구재료

본 실험에서 사용된 재료로는 백렴 (*Ampelopsis radix*)을 분리, 정제하여 얻은 Momordin (supported from Dr. Dug-Keun Lee, NIH, USA)을 사용하였다 (Fig. 1).

2. 연구방법

1) 세포 배양 및 배양액

본 실험에서 사용된 세포주는 유포피암종 세포인 KB cell을 사용하였으며, 배지로 사용된 배양액으로는 10% fetal bovine serum (FBS)이 포함된 Eagle's Minimum Essential Medium 배지 (MEM, GibcoBRL, USA)를 사용하였으며, streptomycin 100 μ g/ml, penicillin 100units/ml과 2mM L-glutamine을 첨가하였다. 세포 배양은 5% CO₂, 95% 공기, 37°C에서 통법에 따라 시행하였다.

2) 세포독성측정 (MTT assay)

KB 세포를 96 well plate에 심은 후 하룻밤 동안 배양하고 다시 48 시간 동안 배양하였을 때 얻어지는 흡광도가 약 0.7~0.9 정도 되는 적정 세포수를 결정하였다. 결정된 적정수의 KB 세포를 96 well plate에 심은 후 하룻밤 동안 배양하고 다양한 농도의 Momordin를 가하여 48시간 동안 배양하였다. MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (sigma Chemical Company, USA)는 PBS에 5mg/ml로 녹여서 0.2 μ m 여과지로 거른 뒤 -20°C에 분주하여 보관하였고 필요시 녹여 사용하였다. MTT를 10 μ l를 가하고 4시간 동안 배양후 각 well의 배양액을 제거하고 형성된 formazan 결정을 0.04 N HCl이 함유된 iso-propanol 100 μ l를 첨가하여 가볍게 진탕하여 완전히 용해시킨 후, 이를 ELISA multiplate reader (Biorad Co., USA)로 570nm에서의 흡광도를 측정하였다.

3) DNA fragmentation assay

KB 세포를 60mm 배양기에서 (confluence : 40~50%) 배양하고 momordin (final concentration : 0 μ g/ml)을 처리한 후 원심분리(4°C에서 5분간 750 \times g)로 수확하였다. 수확한 세포를 cold PBS로 2회 세척하고 TE buffer (10mM Tris-Cl, 1mM EDTA, pH 8.0) 200 μ l에 부유시킨 다음 1ml의 lysis buffer (0.5% SDS, 25mM Tris, 5mM EDTA, pH 7.5)를 넣어 용해하였다. 여기에 proteinase K를 1 μ g/ml 농도가 되게 처리하고 50°C에서 3시간 동안 두어 단백질을 제거하였다. 그 다음 phenol과 chloroform을 1 : 1로 섞은 용액으로 3 회에 걸쳐 DNA를 추출 분리하였다. 여기에 1/10vol.의 3M sodium acetate(pH 5.2)와 2.5vol.의 cold ethanol을 첨가하고 -20°C에서 하룻밤동안 두어 DNA를 침전시켰다. 이후 70% ethanol로 세척하고 세포를 Speed Vac. (Savant, Holbrook, NY)을 이용하여 말린 후 TE buffer (pH=8)에 용해 시켰다. 그 다음 RNase (200 μ g/ml)를 넣고 37°C에서 30분간 두어 RNA를 제거하고 65°C에서 5분간 처리하였

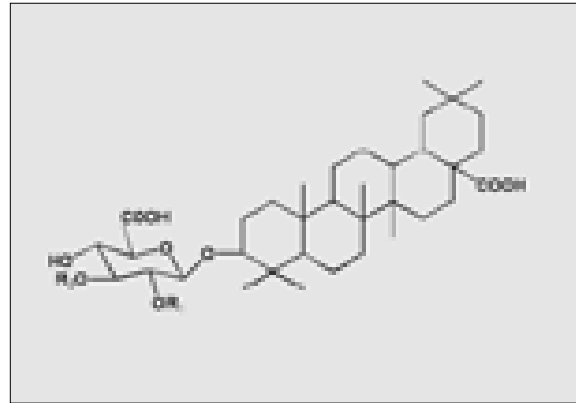


Fig. 1. Structure of momordin.

다. 이렇게 모은 DNA의 농도를 측정하고 DNA을 1.5% agarose gel 상에서 전기영동하였다. Ethidium bromide(0.5 μ g/ml)로 염색 후 UV 하에서 관찰하였다.

4) Flow cytometry analysis

KB 세포를 60mm 배양기에 (confluence : 40~50%) 배양하고 Momordin (final concentration : 20 μ g/ml)을 처리한 후 원심분리 (4°C에서 5분간 750 \times g)로 수확하였다. 그 후 PBS와 Mclvains buffer (0.2M Na₂HPO₄, 0.1M Citric acid, pH 7.5)를 1 : 1의 비율로 혼합한 용액 1ml에 다시 부유시킨 후 70% ethanol 2ml를 첨가하고 4°C에서 60분간 유지 시켜 세포를 고정하였다. 고정된 세포를 4°C에서 5분간 750 \times g로 원심분리하고 PBS 으로 두 번 씻어낸 후 염색시료(10 μ g/ml propidium iodide, 100 μ g/ml DNase free-RNase in PBS) 2ml로 부유시켰다. 그 후 시료를 차광시키고 37°C에서 2시간동안 두어 RNA를 제거하였다. 시료는 FACS Callibur (Becton Dickinson, USA)를 이용하여 세포로부터 발산된 형광도를 측정, 분석하였다.

III. 결 과

1. Momordin의 구강암에 대한 세포독성

구강암 세포주 KB에 Momordin을 0, 5, 10, 20, 40 및 80 μ g/ml 농도로 48시간동안 처리하였을 때의 세포독성 측정결과는 Fig. 2와 같다. Momordin을 처리하지 않은 대조군에서의 세포활성을 100%으로 보았을 때 5 μ g/ml의 농도에서는 76%, 10 μ g/ml 에서는 55%의 세포활성을 보였으며, 20 μ g/ml 이상의 농도에서는 3~5%의 세포활성을 나타내었다. 세포 성장을 50% 저해하는 농도인 IC₅₀값은 10.4 μ g/ml로 나타났으며 이를 볼 때 우수한 성장 저해 효과 및 항암 활성을 보였다.

2. Momordin의 apoptosis 유도 효과

Momordin에 의한 세포 성장 저해 및 항암 효과가 apoptosis 유

도에 의한 것인지 알아보기 위하여 구강암 세포주 KB에 50%의 세포생존을 일으키는 농도인 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 Momordin을 처리하고 시간에 따른 핵내 DNA 분절화 양상을 관찰하였다 (Fig. 3). 대조군과 1일 후에는 DNA 분절화 양상이 관찰되지 않았지만 2일 후부터 DNA fragmentation이 나타나기 시작하였다. 또한 5일까지 관찰하였을 때 시간이 지날수록 더 많은 양의 DNA 분절화가 관찰되었다. Fig. 4는 momordin을 확실히 DNA 분절화가 나타나는 3일 동안 다양한 농도로 처리하였을 때의 DNA 분절화 양상을 관찰한 결과이다. 대조군과 1, 5 및 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서는 DNA 분절화가 관찰되지 않았으나 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상의 농도에서는 Fig. 2에서와 같이 DNA 분절화가 관찰되었다. 또한 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 높은 농도에서는 더욱 많은 DNA 분절화가 관찰되었다. 종합하여 볼 때 momordin은 KB 세포에서 apoptosis 즉 nucleosomal endonuclease 활성에 의한 DNA 분절화를 유도하였으며 이는 momordin을 처리한 시간과 농도에 비례하는 양상을 보였다.

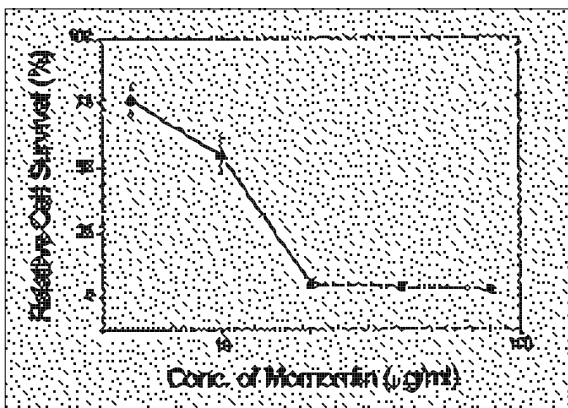


Fig. 2. Relative cell survival of oral carcinoma (KB) cells after treatment of various concentration of Momordin.

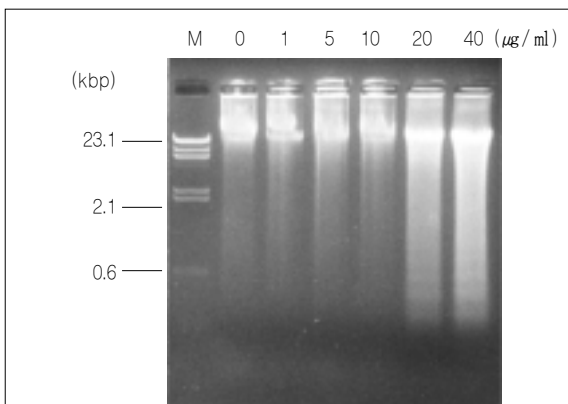


Fig. 4. Nucleosomal DNA fragmentation of KB cells on 3 days after treatment of 0, 1, 5, 10, 20 and 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of momordin.

3. Momordin에 의한 세포 주기 영향

Momordin에 의한 항암효과가 세포주기와 어떤 상관성이 있는지 알아보기 위하여 구강암 세포주 KB cell에 확실한 성장저해를 보이는 농도인 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 Momordin을 처리하고 시간에 따른 세포주기의 분포양상을 관찰 분석한 결과는 Fig. 5, 6과 같다. 세포주기 분석결과 정상적인 KB 세포의 세포 주기 분포는 염색체 복제 준비기인 G1기는 47%, 염색체 복제기인 S기는 8%, 분열준비 및 분열기인 G2/M기는 20%, 그리고 apoptotic bodies의 분포는 2%이었다. 그러나 Momordin 처리에 의해서 1, 2, 3, 4, 5일 후에 세포주기의 상대적 분포 양은 G1기가 각각 44, 45, 44, 35, 12%, S기는 각각 8, 6, 6, 3, 6%, G2/M기는 각각 23, 24, 20, 15, 4%이었다. 또한 apoptotic bodies의 분포 양은 시간이 지남에 따라 각각 3, 5, 19, 38, 75%로 관찰되었다(Fig. 6). 이를 종합하여 볼 때 G1, S, 및 G2/M기의 분포가 시간이 가면서 apoptotic bodies의 증가에 따라 단순히 감소하는 경향을 보였다. 이는 Momordin에 의한 세포 증식 억제 효과가 G1 혹은 G2 arrest, 세포질 분열 억제 등을 일으킴

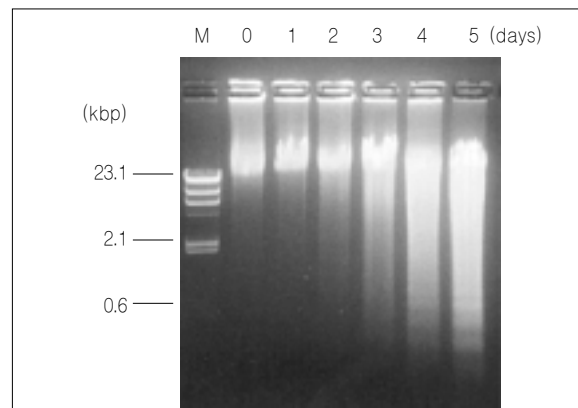


Fig. 3. Nucleosomal DNA fragmentation of KB cells on 0, 1, 2, 3, 4 and 5 days after treatment of momordin (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$).

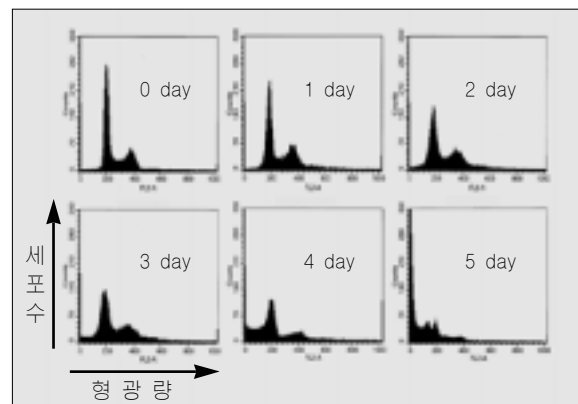


Fig. 5. Flow cytometry analysis of KB cells on 0, 1, 2, 3, 4 and 5 days after treatment of 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of momordin.

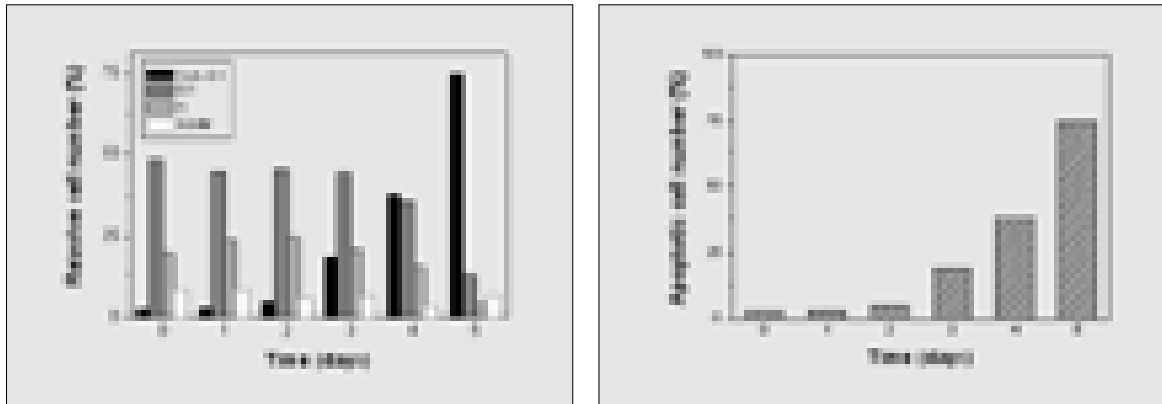


Fig. 6. Appearance of cell cycle distribution(A) and apoptotic cells(B) in momordin- treated KB cells.

으로 나타나는 것이 아니라 단지 apoptosis를 유도하기 때문이라는 것을 보여 주었다.

IV. 총괄 및 고찰

구강암은 전체 암발생율의 5% 정도를 차지하는 것으로 알려져 있다. 높지 않은 발생비율에도 불구하고 불량한 예후, 항암제에 대한 다양한 감수성, 심각한 기능과 심미적 장애, 근처의 어려움 등으로 구강암에 대한 다양한 치료법들에 대하여 관심이 높아져 가고 있는 실정이다.

암치료 방법중의 하나인 화학 요법은 눈부신 발전을 거듭하고 있으며 많은 개선과 발전이 이루어져 왔다. 항암화학요법은 암 세포의 여러 대사경로에 개입하여 작용하는데 주로 DNA와 직접 작용하여 DNA의 복제, 전사, 번역과정을 차단하거나, 핵산전구체의 합성을 방해하여 활성을 저해시키거나, 또는 세포분열을 저해함으로써 암세포에 대한 세포독성을 나타내는 약제들을 포함하며 이들은 중앙에서의 약물에 민감한 세포집단에 작용하여 관해를 유도하게 된다³⁾. 현재까지 알려진 바로는 cisplatin과 5-fluorouracil을 기본으로 한 복합요법이 가장 효과적이라고 알려져 있으며 60~90%까지의 반응율이 보고된 바 있다⁷⁾. 그러나 화학요법은 이런 높은 치료효과에도 불구하고 오심, 탈모증, 골수 기능저하, 신독성 및 면역능력저하등 부작용의 발현으로 그 사용에 큰 제한을 받고 있기 때문에 이러한 부작용을 줄이고 치료 효과를 높이기 위한 약물병용요법의 연구⁸⁾와 신약개발에의 연구가 활발히 진행 중에 있다. 그러나 아직도 화학요법제의 독성문제가 완전히 해결되지 않고 있으며 이에 따른 연구들이 계속되고 있다¹⁴⁾.

최근에 들어 상대적으로 부작용이 적은 것으로 알려졌고 항암효과가 입증되고 있는 전래의 천연약용식물의 성분을 추출, 정제하여 암세포에 작용하는 항암활성정도를 검색하고 확인하는 연구들이 진행 중에 있다^{13,16)}.

1994년 김 등⁹⁾은 황련과 파두의 탈지종자를 분리, 정제하여 추출한 수용성 생약제제를 CP₂라고 명명하고 이들로부터 분리된 항암성분 P₂의 구조를 확인하고 P₂구조에 의한 항암효과를 지남

을 발표하였고, Suh 등¹⁰⁾은 약 400여종의 식물로부터의 추출물 인체의 전골수성 백혈병성 세포주인 HL-60세포에 적용하여 4 μ g/ml이하의 농도에서 IC₅₀값을 나타내는 17종의 식물을 발견해 내었으며 이들중 일부에서는 각각의 항암성분을 밝혀내었다고 보고하였다. 또한 2000년 이 등¹¹⁾은 황련, 정력자, 까마중, 소목, 울금 등의 약제에서 구강암 세포주에 대한 유의성있는 항암활성효과를 나타내었다고 보고하고 cisplatin과의 병용에 의한 증강효과에 대하여 보고하였다.

한편, 실제 임상에서 화학요법 시행시 신중하게 고려하여야 할 사항으로 약제독성에 대한 개별 암세포의 감수성이 중요하다. 또한 화학요법제 사용중 교차내성이 유발될 수 있다는 보고도 있어 적절한 화학요법제 선택을 위한 감수성 검사는 필수적이다¹⁷⁾.

시험관내에서 항암제의 감수성을 판정하기 위해서 DNA 합성능을 직접 측정하는 3H-thymidine DNA uptake 법이 정확한 것으로 알려져 왔지만 고가의 장비가 필요하고 비경제적이며 방사능 오염물질로 인한 여러 문제점을 나타낸다. MTT assay는 3H-thymidine DNA uptake 법과 비교하여 정량적 결과를 비교적 객관적으로 단기간 내에 얻을 수 있으므로 특정 세포주에 대한 새로운 약제의 선별검사, 병용화학요법에 대한 증강효과와 검사, 생화학적 조절에 대한 방법을 모색할 때 매우 유용한 검사방법이다²⁸⁾.

본 연구에서는 백련(*Ampelopsis radix*)의 추출물인 Momordin을 구강암세포주에 적용하여 MTT assay를 한 결과 10.4 μ g/ml의 IC₅₀ 값을 나타내어 항암효과를 나타내는 것을 확인할 수 있었으며 DNA fragmentation assay와 flow cytometry를 이용하여 세포주기에 비특이적으로 apoptosis를 유도하기 때문이라는 것을 밝힐 수 있었다. 최근까지 항암제의 여러 작용기전들이 밝혀지고 있는데 그 중 Apoptosis를 유도함으로써 항암 작용을 나타내는 항암제들이 많이 보고되고 있다. apoptosis는 programmed cell death라고도 불리며 이는 정상적인 발생과 암화과정(oncogenesis)에 관여하는 특정한 유전자들의 발현에 의한 것으로 알려지고 있다. 만일 세포의 암세포의 apoptosis를 선택적으로 유도할 수 있다면 이것은 좋은 항암제로서 이용될 수 있을 것이다^{9,10)}. 향후 Momordin의 정상세포에 대한 독성정도를 검색하고 각각의 항암성분과 apop-

tosis 유도의 분자적 작용기전의 확인 및 실제 임상에 사용하기 위한 임상연구가 필요할 것으로 사료되며 여러 구강암에 대한 감수성 검사 등을 시행한다면 기존의 화학요법제의 단점을 보완하여 새로운 약제 개발에 대한 기초적 실험으로서의 가치를 찾을 수 있으리라 생각된다.

V. 결 론

백림(*Ampelosis radix*)의 추출물인 Momordin을 구강암세포주에 적용하여 항암작용과 항암작용기전을 밝히고자 시행한 본 연구에서는 MTT assay, DNA fragmentation assay, flow cytometry를 이용하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Momordin은 구강암 세포주에 우수한 항암작용이 있었으며 KB 세포의 Momordin에 의한 IC₅₀ 값은 10.4 μ g/ml 이었다.
2. Momordin을 구강암 세포주에 처리하였을 경우 시간과 용량의존적인 DNA 분절이 관찰되었다. 20 μ g/ml 용량에서 3일간 처리 후에 DNA 분절이 관찰되기 시작하였다.
3. Flow cytometry를 이용한 분석결과 momordin 처리시 용량의존적인 apoptotic cell의 증가가 관찰되었다. 20 μ g/ml의 용량에서 3일간 처리 후에 18.55%의 apoptotic cell이 관찰되었다.
4. Momordin은 세포주기에 비특이적으로 apoptosis를 유도하였다.

세포독성분석, DNA fragmentation assay, flow cytometric analysis를 통한 분석에서 momordin의 구강암세포주에 대한 항암효과는 apoptosis유도에 의한 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 이영훈, 김여갑, 김정희 : 구강암에 대한 약용식물 추출물의 항암효과에 관한 연구. 대한구강악안면외과학회지 26: 53-58, 2000.
2. 이종환, 김명진 : 구강편평세포암 세포주에서의 cisplatin 과 5-fluorouracil의 항암감수성의 측정. 대한구강악안면외과학회지 24: 165-171, 1998.
3. 김정희, 현진원, 김여갑: 천연 약용식물 추출물의 구강상피세포암 세포주에 대한 항암효과. 응용약물학회지 7: 153-157, 1999.

4. 박승오, 신호근, 김오환: MTT법을 이용한 사람 골육종과 상피암 세포주들에 대한 항암제 감수성 검사. 대한악안면성형외과학회지 13: 391, 1991.
5. 이종수, 김여갑 : 인삼사포닌의 구강암세포에 대한 항암활성 및 정상세포의 증식과 보호효과에 관한 연구. 경희의학 20:2:117-128, 1999.
6. DK Lee, BS Kim, SG Lee, HJ Gwon, EY Moon, HS Hwang, SK Seong, MS Lee, MJ Lim, HJ Sung, DH Shin, SJ Yoon, CH Yang : Momordins inhibit both AP-1 function and cell proliferation. Anticancer Research 18: 119-124, 1998.
7. 명훈, 김명진 : 구강편평상피세포암 세포주와 골육종 세포주에서 Taxol[®] 과 Cisplatin의 항암효과에 대한 연구. 대한구강악안면외과학회지. 25: 236-241, 1999.
8. Kish JA, Drelichman A, Jacobs J : Clinical trial of cisplatin and 5-fluorouracil infusion as initial treatment of advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. Cancer Treat Res 66: 471-474, 1982.
9. 김정환, 이상준, 한영복, 김종배 : 파두와 황련의 수용성 혼합물 (CP₂)로부터 분리된 항암성분의 구조확인 및 세포독성에 대한 연구. 약학회지 38:31-37, 1994.
10. Suh N, Luyengi L, Fong HH, Kinghorn AD, Pezzuto JM : Discovery of natural product chemopreventive agents utilizing HL-60 cell differentiation as a model. Anticancer Res 15(2): 233-239, 1995.
11. Kim SH : Clinical comparison with drug sensitivities by the human tumor clonogenic assay. J Kor Cancer Assoc 21: 11-23, 1989.
12. Weaver A, Flemming S, Kish F, Vandenberg H, Jacob J, Crissman J, Al-Warraf M : Cisplatin and 5-Fluorouracil as induction therapy for advanced Head and neck cancer. Am J Surg 144: 445-448, 1982.
13. Sargent JM, Taylor CG : Appraisal of the MTT assay as a rapid test of chemosensitivity in acute myeloid leukemia. Br J Cancer 60(2): 206-210, 1989.
14. Angel P, Karin M : The role of Jun, Fos and the AP-1 complex in cell-proliferation and transformation. Biochim Biophys Acta 1072: 129-157, 1991.
15. Fisher B : Clinical trials for the evaluation of cancer therapy. Cancer 54: 2609, 1984
16. Hongo T, Fujii Y, Igarashi Y : An In vitro chemosensitivity test for the screening anti-cancer drug in childhood leukemia. Cancer 65: 1263, 1990
17. Pezzuto, J, M. (1997) : Plant-derived anticancer agent, Biochem Pharmacol 53, 121-133, 1997.
18. 오환용, 고승오, 신호근, 김오환 : 人繼代 암세포주 성장 저해에 미치는 영지의 항암효과. 대한구강악안면외과학회지 22: 437-450, 1996
19. J. Bosmer, D.L. Madhavi, K. Singletary, M. A. L. Smith : In vitro anticancer activity of fruit extracts from vaccinium species. Planta Med 62. 212-216, 1996.
20. 양용만, 현진원, 임경화, 성민숙, 강삼식, 백우현, 배건우, 조현, 김형자, 우은란, 박호근, 박재갑: 전통 약용식물 및 각종 식물의 항암 효과에 대한 연구(Ⅲ). 생약학회지 27: 105-110, 1996