

蛇莓의 KATOⅢ 胃癌細胞에 對한 抗癌效能

임중화, 류봉하, 김진성, 윤상협, 류기원
경희대학교 한의과대학 비계내과학교실

Effects of *Duchesnea indica* on Human Stomach Cancer Cells(KATOⅢ).

Joong-Hwa Lim, Bong-Ha Ryu, Jin-Sung Kim, Sang-Hyub Yoon, Ki-Won Ryu
3rd Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Kyung-Hee University

Background : Death by cancer, malignant tumor, is on the increase around the world. In South Korea, cancer is the number one cause of death, and, in South Korea, stomach cancer is the most common form of cancer. This may be due to genetic and environmental factors. Because stomach cancer is so prevalent here, this study was undertaken.

Objectives : This study was conducted to investigate the anti-cancer effects of *Duchesnea indica*(Andr.) Focke. in human stomach cancer cells(KATOⅢ).

Materials & Methods : For human stomach cancer cells KATO Ⅲ cells were obtained from Korea Cell Line Bank. The water decoction of *Duchesnea indica*(Andr.) Focke was added to cultures. First, morphological changes were examined under an inverted microscope. The destruction of stomach cancer cells was measured through Trypan blue exclusion testing, and suppression of viability of stomach cancer cells was measured via MTT assay. Anti-cancer mechanisms were assessed by analyzing the cell cycle.

Results & Conclusions : In morphologic change, stomach cancer cells showed the withdrawn and floating appearance that is typical in cellular impairment. In each test group more stomach cancer cells were killed than in the control group to a statistically significant degree. Each test group showed more suppression of viability of stomach cancer cells than that of the control group to a statistically significant degree. Analysis of the cell cycle showed that *Duchesnea indica*(Andr.) Focke inhibited division of stomach cancer cells.

This experiment yielded empirical evidence for *Duchesnea indica*(Andr.) Focke as a statistically significant anti-carcinogen, specifically against stomach cancer.

Key Words: anti-cancer effects, stomach cancer, *Duchesnea indica*(Andr.) Focke.

1. 緒 論

암은 세계적으로 발생률이 매년 증가 추세에 있으며 우리나라의 경우도 암으로 인한 사망률은 해마다 높아져 2002년도에는 사망원인 중 1위로 보고 되었다¹. 이 중에서 위암은 우리나라에서 유전적 요

인 및 식생활을 포함한 환경적 요인으로 인하여 다른 나라보다 높은 발생빈도를 나타내어 원발성 암의 발생빈도 1위(20.3%)를 차지하고 또한 남자의 경우 1위(24.1%)와 여자의 경우 유방암(16.1%)에 이어 2위(15.3%)를 차지하고 있다².

위암에 대한 치료법으로는 외과적 수술요법, 항암약물요법, 방사선요법, 면역요법, 유전자요법 등이 알려져 있다. 그러나 면역요법과 유전자요법은 개발단계에 있으므로 치료방법이 아직 정립되지 못한 실정이며, 수술요법과 방사선요법은 국소적인 위

· 접수 : 2005. 2. 21. · 채택 : 2005. 4. 20.
· 교신저자 : 류봉하, 서울시 동대문구 회기동 1번지
경희의료원 한방병원 비계내과학교실
(Tel. 02-958-9137 Fax. 02-958-9136
E-mail : rbongh@khu.ac.kr)

암의 치료에는 어느 정도 유효하지만 전이된 위암에는 치료에 한계가 있다³. 그러므로 현재에는 화학요법의 중요성이 강조되고 있는데⁴, 이러한 항암제는 그 작용의 비특이성으로 인해 정상세포까지 독성을 나타내어 소화장애, 탈모, 혈액학적 변화, 면역기능저하, 골수조혈장애, 생식기 장애, 유전인자장애 등의 많은 부작용을 수반하고 있다. 그래서 항암치료제의 부작용을 감소시키면서 암세포에만 특이적 독성을 나타내는 항암제를 합성물질이 아닌 천연물질에서 개발하려는 노력이 시도되고 있다^{5,6}.

한의학에서는 위암이라는 명칭은 없으나 위암에 관련된 용어로는 脾積, 伏梁, 胃脘癰, 噎膈, 反胃, 心下痞 등의病症에서 유사점을 찾을 수 있다⁷. 한의학계에서도 항암치료의 한계를 극복하기 위한 노력으로 각종 韓藥劑와 複合方들에 대한 실험을 통하여 항암효과와 면역증진, 항암제의 부작용억제, 항암제와의 병용요법 등에 관한 연구들을 진행하였으며⁸, 黃藥子⁹, 山慈菇⁶, 鬱金⁸, 斑蝥¹⁰, 蛇莓¹¹, 石雄黃¹², 整腸補脾湯¹³, 消癌去痰益氣湯¹⁴, 四君子湯 및 四君子湯加斑蝥¹⁵, 四君子湯加山慈菇¹⁶가 위암세포에 미치는 항암효과에 대한 실험보고가 있으며 향후 임상에 더 활용하기 위해서는 다양한 암세포에 효능이 있는 약제의 개발이 필요한 실정이다.

사매는 장미과에 속하는 다년생 초본식물 사매(사매; *Duchesnea indica*(Andr.) Focke.), 또는 뱀딸기(사매; *Duchesnea chrysantha*(Zoll. et Morr.) Miq.)의 全草이며 三葉蕪, 三點紅, 三爪龍, 三匹風 地莓, 野楊莓라고도 한다. 우리나라의 각지에 분포하고 산기슭, 길가, 논밭둑 잡초 속에서 자라며 味는 甘酸하고 性은 寒하며 有小毒하다. 歸經은 肺經, 肝經, 心經이고 효능은 淸熱, 涼血, 消腫, 解毒하며 主治症은 熱病, 驚癇, 咳嗽, 咽喉腫痛, 痢疾, 癰腫, 疔瘡, 蛇咬傷, 火傷이다¹⁷. 근래에 와서는 위암을 비롯하여 직장암, 비인두암, 식도암, 후두암, 자궁경부암, 다발성골수암 등의 치료에 이용한다는 보고가 있다^{18,19}. 특히 사매의 위암 치료제의 가능성은 AGS 위암세포에 대한 항암효과 연구에서 실험적으로 확인된 바 있으나 AGS 이외 위암세포에 대해서도 효과를

입증할 필요가 있다고 생각한다.

이에 저자는 위암세포에 대한 사매의 항암 효능을 추가적으로 입증하기 위하여 KATOIII 위암세포를 대상으로 하여 사매를 약물처리한 후 형태학적 변화관찰, 위암세포의 살상효과측정, 위암세포의 증식억제효과측정 및 위암세포주기의 분석을 통하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實 驗

1. 材料

1) 藥材

실험에 사용한 蛇莓(생약명: *Duchesnea indica* Herba, 학명: *Duchesnea indica*(Andr.) Focke.)는 서울 경동시장 건재약국에서 구입, 정선한 후 사용하였다. 시약은 특별한 명시가 없는 한 Sigma. MO의 제품을 사용하였다.

2) 檢液의 調製

사매 50g을 잘게 부순 후 물 50ml에 넣고 121℃에서 15분간 끓인 후 상층액을 취하여 0.2μl syringe filter로 여과하여 검액으로 사용하였다.

3) 胃癌細胞의 選定

이 실험에서 사용한 위암세포주는 KATOIII로 한국세포주은행에서 구입하여 사용하였다.

2. 方法

1) 胃癌細胞의 培養

위암세포주 KATOIII를 10% Fetal bovine serum (Life technology. CA), 1% broad-spectrum antibiotics (Life technology. CA)가 함유된 RPMI-1640(Life technology. CA)배지를 이용하여 37℃, 5% CO2 incubator(NAPCO, precision scientific Inc.)에서 배양하였다. 세포의 회수는 0.1% trypsin-EDTA를 이용하여 37℃에서 5분간 처리한 후 회수하였다.

2) 藥物 處理

약물처리하는 배지 5ml당 10μl 또는 20μl를 투여하였다.

3) 形態學的 變化的 觀察²⁰

배지 5ml당 10μl의 약물을 투여한지 48시간 경과

후에 세포를 inverted microscope(CK2, olympus optical Co. LTD., Japan)으로 관찰하였다.

4) Tryphan blue exclusion test에 의한 胃癌細胞의 殺傷效果 測定^{21,22}

세포를 회수한 후 $10^6/ml$ 의 농도로 세포액을 만든 후 세포액, HBSS(Hanker's balanced salt solution), 0.4% tryphan blue를 각각 0.5ml, 0.3ml, 0.2ml의 비율로 섞은 후 5분간 방치한 후 10분 이내에 푸르게 염색된 세포의 비율을 역상현미경(inverted microscope) 하에서 측정하였다. 본 실험은 3회에 걸쳐 시행하였다.

5) MTT assay에 의한 胃癌細胞의 增殖抑制效果 測定²³

위암세포 증식억제효과를 검증하기 위하여 MTT assay를 시행하였고 본 실험은 3회에 걸쳐 시행되었다.

① MTT 용액제작 및 처리

MTT(3- [4,5-Dimethylthiazol-2-yl] -2,5-diphenyltetrazolium bromide) 5mg/ml을 PBS(phosphate buffer saline)에 녹여 pH 7.5로 조절한 후 0.22 μ m filter로 여과하여 MTT stock solution을 만들었다. 그리고 10 μ l MTT를 100 μ l의 cell suspension에 추가하였다.

② 효소반응과 면역형광측정

MTT stock solution에 cell suspension을 첨가한 상태로 37 $^{\circ}$ C에서 3시간 방치하여 보라색 formazan crystals가 형성된 후 absolute isopropanol에 녹아있는 100 μ l 0.04M HCl을 넣어 보라색 formazan crystals가 완전히 용해된 후 ELISA(Enzyme linked immu-

nosorbent assay) reader(E-max, Molecular device, USA)를 이용하여 570nm의 파장에서 흡광도(O.D., optical density)를 측정하였다.

6) 胃癌細胞 週期の 分析²⁴

세포를 10cm dish에 80%의 confluence가 되도록 분주한 후 배지 1ml당 10 μ l의 검액을 투여하여 48시간 경과 후 세포를 회수하여 PBS에 세척한 후, 70% ethanol로 4 $^{\circ}$ C에서 2시간동안 고정시키고 다시 PBS로 5분간 3번씩 세척해 준 후 100 μ g/ml의 propidium iodide(Sigma P 4170)를 세포에 넣어주고 4 $^{\circ}$ C 암실에서 1시간 동안 염색한다. 이것을 flow cytometer(유세포 분석기)로 측정해서 세포주기를 분석하였다.

3. 統計處理

각 실험군과 대조군 사이의 유의성 검사는 Mann-Whitney U-test를 시행하였으며 p<0.05를 유의성 있는 결과로 판정하였다.

III. 成績

1. 胃癌細胞의 形態學的 變化的 所見

형태변화는 대조군의 경우, 큰 변화가 없었으나 실험군의 경우 핵 및 세포질이 위축되어 크기가 작아 지면서 세포배양 용기로부터 떨어져 나오는 전형적인 세포손상의 형태학적 변화가 관찰되었다(Fig. 1.).

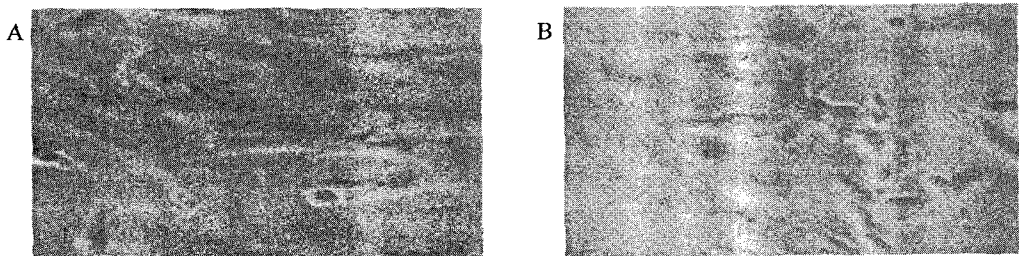


Fig. 1. Morphological changes of cancer cells.

A: Control group

B: Sample Group treated by *Duchesnea indica*(Andr.) Focke. 10 μ l

2. 胃癌細胞의 殺傷效果

사매의 위암세포에 대한 살상효과는 모두 24시간 후부터 통계적으로 의미 있게 증가하고 10 μ 보다 20 μ 에서 더 높은 효과를 나타내서 시간이 경과함에 따라 용량에 의존하여 높은 살상효과를 나타냈다 (Fig. 2.).

3. 胃癌細胞의 增殖抑制效果

위암세포 증식억제효과는 10 μ 에서 36시간 후부터 통계적으로 의미 있게 감소하였고 20 μ 에서는 24시간 후부터 통계적으로 의미 있게 감소했으나

검액의 용량의존성은 나타나지 않았다.

4. 胃癌細胞 週期の 分析

사매의 위암세포 살상효과의 기전을 더 알아보기 위해 propidium iodide로 세포주기를 분석하였다.

10 μ 의 검액을 투여하고 48시간 후에 세포주기를 측정한 결과 대조군의 G0/G1, S/M이 각각 69%, 31%인데 비해 실험군의 G0/G1, S/M은 각각 82%, 18%였다(Fig. 3). 즉, 분열기의 세포가 감소하는 경향을 보였다.

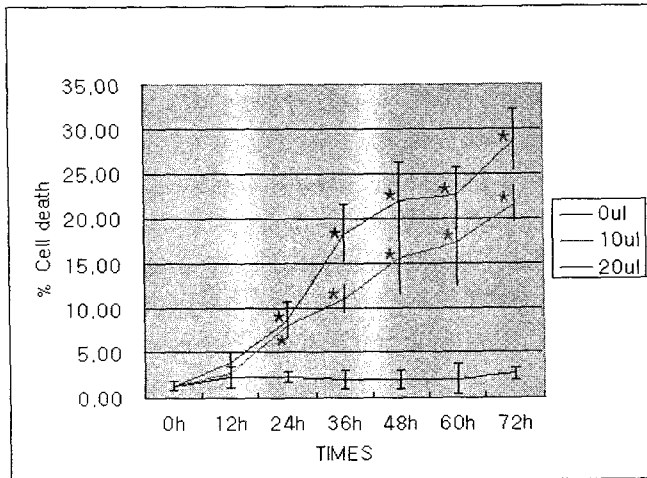


Fig. 2. Time and dose dependent cell death effect of *Duchesnea indica*(Andr.) Focke. on KATOIII cells.

There was statistically significant difference between control and sample groups. * p<0.05

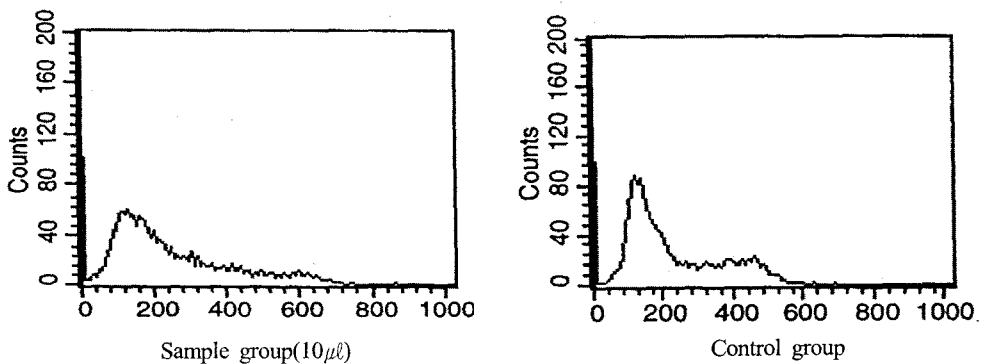


Fig. 3. Cell cycle analysis of sample group(10 μ l) & control group.

IV. 考 察

종양은 비정상 세포의 과잉발육이 체내의 각 부위에 확산 침윤하여 정상 조직을 파괴하는 질환으로 이를 구성하는 세포의 형태와 증식 특성에 따라 양성종양과 악성종양으로 구분하며 암(cancer)은 바로 악성종양에 해당한다²⁵.

암은 오늘날 인류를 위협하는 주요 난치성 질환의 하나로, 암의 발생 원인에 대하여 내적인자로서의 유전, 인종과 지리학적 요인, 연령, 면역학적 요인과 외적인자로서의 화학적 발암인자와 자외선 조사, 석면, 방사선 등과 같은 물리적 발암인자 및 바이러스성 발암인자 등이 언급되고 있고 이들에 의하여 유전자가 손상되어 돌연변이가 됨으로써 발생하는 것으로 보고 있다²⁶.

위암은 환경적 요인, 인종과 유전성, 악성빈혈, 만성 위축성 위염, 헬리코박터 파일로리균 등이 발생에 관여하는 위험인자로 알려져 있으며 초기 증상이 불분명하고 적절한 집단 검진수단이 없는 관계로 초진시 발견되는 위암의 2/3이상이 3기 이상의 진행성 위암으로 알려져 있다. 위암의 치료에 있어서도 근치적 절제술 후 5년 생존율이 제1기(97.6%)와 제2기(72.2%)에 있어서는 비교적 만족할 만하나 제3기(30%)와 제4기(5% 미만)에 있어서는 극히 불량하여 실제로 위암환자의 약 40% 이상은 진단시 이미 절제가 불가능할 정도로 진행되어 있다. 진행성 위암의 경우 여러 종류의 화학요법이 시도되어 왔으나 일부의 연구결과를 제외하고는 의미 있는 치료성적을 보이지는 못하고 있으며 오히려 화학요법 자체로 인한 오심 및 구토, 백혈구 및 혈소판 감소 등의 골수독성, 탈모, 전신쇠약감 등 부작용으로 삶의 질 저하뿐만 아니라 치료를 중도에 포기하는 경우도 드물지 않다. 선진국에서는 오래 전부터 막대한 예산과 인력을 들여 암 예방 혹은 암 정복 사업을 현재까지 전개해 오고 있지만 별다른 실효를 거두지 못하고 있는 실정이다. 최근에 와서 항암제의 부작용을 경감시키기 위한 임상연구와 기초연구가 활발히 진행되어 항암화학요법으로 인한

부작용을 최소화하고 나아가 치료효과를 높이려는 시도가 다양하게 이루어지고 있다. 한편, 국내 암사망률 수위를 점하고 있는 위암은 서구에서는 발생률이 높지 않아 그 치료에 대한 연구도 아시아 국가에서 더 활발히 진행되고 있다. 그러나 위암의 특성상 조기에 발견되지 않아 치료에 어려움이 많고 치료 부작용도 심각하여 서구의 치료법에 동양의술을 접목하여 상호 보완하는 치료법들이 많이 연구되고 있다²⁷.

한의학에서는 위암이라는 명칭은 없으나 위암에 관련된 용어로는 脾積, 伏梁, 胃脘癰, 噎膈, 反胃, 心下痞 등의病症에서 유사점을 찾을 수 있다. 발병원인은 氣滯鬱結, 情志失調, 飲食不節, 脾胃虛寒, 氣滯血瘀로 요약되고, 辨證分型에 있어서는 肝胃不和, 胃熱傷陰, 脾胃虛寒, 瘀毒內阻, 脾虛痰濕, 氣血雙虧로 구분할 수 있다²⁸.

치료법은 숙주의 항암능력을 증강하는 益氣健脾, 滋陰養血, 養陰生津, 溫補腎陽, 滋補強壯 등의 扶正固本法, 암세포를 공격하는 의미의 行氣散結, 疏肝理氣, 攻堅破積消脹, 活血化痰, 化痰通絡, 清熱解毒 등의 祛邪法 및 扶正과 祛邪를 兼施하는 扶正祛邪法으로 大別할 수 있다. 그 중 扶正固本法은 많은 연구가 이루어지고 효과도 양호하여 癌末期의 악액질이나 항암화학요법으로 인한 부작용에 사용되고 있다. 그러나, 祛邪法은 아직 많은 연구도 없었고 효과도 역시 미약하였다. 따라서 심각한 부작용을 유발하는 항암화학요법을 대신할 천연항암제의 개발이 시급한 실정이다²⁹.

최근의 韓藥 및 方劑를 이용한 실험적 연구로는, 黃藥子⁹, 山慈菇⁶, 鬱金⁸, 斑蝥¹⁰, 蛇莓¹¹, 石雄黃¹², 整腸補脾湯¹³, 消癌去痰益氣湯¹⁴, 四君子湯 및 四君子湯加斑蝥¹⁵, 四君子湯加山慈菇¹⁶가 위암세포에 미치는 항암효과에 대한 분자생물학적 연구에 관한 실험보고가 있었으며 앞으로도 위암의 치료율을 높이기 위하여 다양한 위암세포들에 대한 韓藥材의 개발이 필요하다고 사료된다.

사매는 장미과에 속하는 다년생 초본식물 사매(사매; *Duchesnea indica*(Andr.) Focke.), 또는 뱀딸기

(사매; *Duchesnea chrysantha*(Zoll. et Morr.) Miq.)의 초본이다. 사매의 주요 약리학적 성분은 중자유종의 지방산인 linolic acid(53.1%)이고 불감화성 물질로는 탄화수소, alcohol, sterol이 있으며 sterol의 주성분은 β -sitosterol(sterol 총량의 89.5%)이다¹⁷. 근래에 와서는 위암을 비롯하여 직장암, 비인두암, 식도암, 후두암, 자궁경부암, 다발성골수암 등의 치료에 이용한다는 보고가 있고 북한에서도胃癌, 鼻癌, 肺癌, 子宮頸部癌 등의 치료제로 활용되고 있는 것으로 알려져 있다^{18,19}.

사매에 대한 연구로는 사매가 AGS 위암세포에 미치는 항암효과에 대한 연구¹¹가 있다. 그러나 실제 임상에서 사매를 위암에 사용하기 위해서는 AGS 외에 다른 위암세포주에 대한 효능이 있는지를 확인할 필요성이 있다. 이에 저자는 사매가 위암세포주의 종류인 KATOIII에 관한 효능을 연구하기 위하여 역상현미경을 통한 위암세포의 형태학적 변화를 Trypan blue exclusion test를 통한 살상효과를 측정, MTT assay를 시행하여 증식억제효과를 측정 및 위암세포 주기의 변화를 분석하여 다음과 같은 성적을 얻어 그 의미를 고찰해 보고자 한다.

항암제의 작용기전을 밝히기 위해서는 먼저 대상 항암제가 암세포의 생존에 미치는 영향을 측정하는 것이 중요한데 Trypan blue exclusion test를 통해서 이것을 수행하였다. 살아있는 세포의 경우 trypan blue에 염색되지 않고 투명하게 보이나 죽은 세포의 경우 파란 색으로 염색되는데^{8,10}, 전체 세포수와 염색된 세포 수를 세어 살상율을 측정한 결과, trypan blue를 배출하지 못하는 손상된 세포의 수가 $10\mu\text{l}$, $20\mu\text{l}$ 에서 모두 24시간 후부터 통계적으로 의미 있게 증가하고 $10\mu\text{l}$ 보다 $20\mu\text{l}$ 에서 더 높은 효과를 나타냈다. 따라서 사매는 위암세포에 대해 시간이 경과함에 따라 용량 의존적으로 높은 살상효과를 나타냈다.

암세포 증식억제효과는 MTT assay에 의하여 평가되었다. 이것은 세포내 mitochondria의 tricarboxylic acid cycle에 관여하는 효소인 succinate dehydrogenase에 의해 황색의 MTT(3,4,5-Dimethylthiazol-2-y]

-2,5-diphenyltetrazolium bromide)가 보라색의 formazan으로 변하는 정도를 비색 정량함으로써 항암제의 감수성을 평가하는데 세포의 viability에 따라 MTT-formazan의 양이 달라지며 이를 적절한 용매에 작용시킨 후 spectrophotometer로 읽어내어 세포의 생존능력을 측정한다²³.

MTT assay는 생존 종양세포의 효소 작용에 의해 MTT시약이 환원되어 생기는 formazan 용액의 불안정성으로 인한 단점 및 간질세포에 의한 오염, cell-to-cell contact의 소실, 세포의 self-renewal regrowth를 제거할 수 없다는 단점은 있으나, 적은양(최소 1g 이상)의 검체로 신속하고, 간편하게 시행할 수 있으며 실험조작의 자동화가 가능하고 평가율이 타 항암제 검사보다 높고 실험결과의 재현성과 객관성도 우수하여 대량검색이나 초기검색단계에 적합하다²³.

본 실험에서 사매의 위암세포에 대한 증식억제효과는 시간의 경과에 따라 유의성 있게 증가함을 알 수 있었다. 그러나 용량에는 비례하지 않는 것으로 나타났다.

세포는 개체가 살아 있는 동안은 꾸준히 분열, 증식 및 분화를 반복하게 되는데 수많은 세포주기 조절인자들에 의하여 외부환경 및 내부인자들의 상태를 정확히 인지하고 판단하여 적절한 시기에 적절히 분열 혹은 분화하도록 조절되고 있다³⁰. 세포주기는 한 세포가 성장하여 두 세포로 분열되는 과정으로 G1 phase, S phase, G2 phase 및 M phase의 4 단계로 나누고 있다. G1 phase는 첫 번째 휴지기로 세포가 분열된 직후 다음의 성장과정을 시작하기 이전에 필요한 세포내 인자를 구비하고 적절한 크기의 세포가 되도록 준비하는 기간이며 S phase는 DNA의 복제가 이루어지는 시기이고 G2 phase는 한 세포가 두 세포로 분열되는데 필요한 인자들이 모두 만들어지는 시기이며 M phase는 세포질의 분열이 일어나고 세포벽이 생기면서 한 세포가 두 세포로 실제로 나누어지는 시기이다. 최근, 세포주기를 조절하는 기전에 관한 지식이 급속도로 증가함에 따라 암세포의 증식을 억제하는 약제들의 작용기전을 세포주기의 조절과 관련하여 이해하는 것이

가능하게 되었다. 본 실험에서는 이와 달리 사매가 세포주기에 관여하지는 않고 분열자체를 억제하는 것으로 나타났다.

요약하면 사매는 위암세포에 대해 살상효과를 보이고 증식을 억제하는 효능이 있음을 알 수 있었다. 사매를 위암에 사용하기 위해서는 더 심도 있는 연구가 필요할 것으로 사료되며 암치료제로 적극 활용하기 위해서는 위암뿐만 아니라 다른 종류의 암 종에 대하여 추가적인 실험 및 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 結 論

사매가 KATOIII 위암세포에 대한 항암효능을 규명하기 위하여 KATOIII에 검액을 처리한 후 inverted microscope을 통한 위암세포의 형태학적 변화관찰, Trypan blue exclusion test를 통한 위암세포 살상효과, MTT assay를 통한 위암세포의 증식억제효과 및 세포주기를 분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 사매는 핵 및 세포질이 위축, 크기가 작아지고 세포배양 용기로부터 떨어져 나오는 전형적인 세포손상의 형태학적 변화를 유발하였다.
2. 사매는 위암세포에 대해 경시적 및 용량의존적 살상효과를 나타냈다.
3. 사매는 위암세포의 증식을 억제하였다($p < 0.05$).
4. 사매는 위암세포의 세포분열을 억제시켰다.

參 考 文 獻

1. 통계청. 2002년 사망원인별 사망자수 및 사망률 (Available from URL <http://www.nso.go.kr>)
2. 한국중앙암등록 사업 연례 보고서(2001.1.~2001.12.). 보건복지부 한국중앙암등록본부. 2003.
3. 서울대학교의과대학편. 腫瘍學. 서울: 서울대학교 출판부; 1998, p.138, 149-53, 168, 182-4, 225-7.
4. 박상구, 이지현, 문구, 문석재, 원진희, 박래길. 백화사설초 매탄을 추출물에 의한 HL-60 세포 고사과정에 있어서의 transcriptional factors 활성

- 변화 연구. 대한한방중앙학회지. 2000;6(1):67-80.
5. 김진성, 이지향, 류봉하, 박재훈, 지성길, 유진화. 數種 韓藥劑의 胃癌細胞에 對한 抗癌作用 效能 檢索 및 藥理 作用에 關한 分子生物學的 研究. 大韓腫瘍學會誌. 1999;5(1):47-60.
6. 김선량, 류봉하, 류기원, 박동원. 산자고가 위암 세포에 미치는 영향. 대한한방학회지. 2001;22(2): 75-83.
7. 최승훈. 동의중양학. 행림출판; 1995, p.179-88.
8. 조유경, 윤상협, 김병우, 김진성, 류기원, 류봉하. 울금이 위암세포에 미치는 영향. 대한한방중앙 학회지. 2003;9(1):15-37.
9. 김성희, 류봉하, 류기원, 윤상협, 김진성. 黃藥子의 胃癌細胞에 對한 抗癌 效能 檢索. 대한한방 내과학회지. 2002;23(1):99-106.
10. 정명채, 김진성, 윤상협, 류봉하, 류기원. 반묘가 수종의 인체 암세포에 미치는 영향. 대한한방내 과학회지. 2004;25(2):202-13.
11. 홍상선, 김진성, 윤상협, 류봉하, 류기원. 사매가 위암세포에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2003;24(2):290-9.
12. 김동묵, 김진성, 윤상협, 류봉하, 류기원. 석유향 이 시험관내 위암세포 항암작용에 관한 연구. 대한한방내과학회지. 2003;24(3):426-40.
13. 全宇鉉, 金珍成, 柳逢夏, 朴東源, 柳基源. 整腸補脾湯의 消化管機能 및 胃癌細胞 增殖抑制能에 關한 研究. 慶熙韓醫大論文集. 2000;23(1):17-34.
14. 신병철, 김진성, 윤상협, 류봉하, 류기원. 消癌去痰益氣湯의 抗癌效果에 對한 研究. 대한한방내 과학회지. 2002;23(4):587-95.
15. 정우영, 김진성, 류봉하, 류기원. 四君子湯 및 四君子湯加斑猫가 胃癌細胞에 미치는 影響. 대한 한방내과학회지. 2001;22(4):579-88.
16. 김진석, 류봉하, 류기원, 윤상협, 김진성. 四君子湯加山慈菇가 위암세포에 미치는 항암효과에 대한 분자생물학적 연구. 대한한방내과학회지. 2002;23(2):202-11.
17. 동양의학대사전 편찬위원회. 동양의학대사전.

- 서울: 경희대학교 출판국; 1999, p459-60.
18. 조종관. 한방임상중양학. 대전: 주민출판사; 2001, p.400, 1076.
 19. 劉春安, 彭明 主編. 抗癌中草藥大辭典. 湖北洪湖市: 湖北科學技術出版社; 1994, p.934-6.
 20. LeBrun DP, Warmke RA, Cleary ML. Expression of bcl-2 in fetal tissues suggests a role in morphogenesis. *Am j Pathol.* 1993;142:743-53.
 21. Jennifer M. Jones, Jack W. Anderson. Relative potencies of PAHs and PCBs based on the response of human cells. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 1997;7:19-26.
 22. 손윤희, 남경수. 포공영 에탄올 추출물이 발암 개시에 미치는 영향. *대한암예방학회지.* 2002;7(1):13-8.
 23. 정경석, 홍창걸, 문성하, 이재정, 최창식, 이계숙. MTT Assay를 이용한 위선암의 항암제 감수성 검사. *외과학회지.* 1995;49(4):479-83.
 24. San-Han Lee, Do-Kwon Kim, Young-Rok Seo, Kee-Min Woo. Nickel(II)-induced apoptosis and G2/M enrichment. *Experimental and Molecular medicine.* 1998;30(3):171-6.
 25. 대한병리학회. 병리학 제5판. 서울: 고문사; 2003, p.144-9.
 26. 김태영, 김대근, 전병훈, 정우열, 우원홍. 활혈화 어약물의 항암활성에 대한 연구. *동의생리병리학회지.* 2001;15(2):356-60.
 27. 이종인, 심광용, 김호영, 최서영, 방대건, 조경숙. 위암 및 간암환자의 치료에 있어 양·한방 협진의 효과에 관한 임상시험. *대한한방중양학회지.* 2001;7(1):117-29
 28. 尹誠佑, 柳逢夏, 朴東源, 柳基遠. 胃癌의 韓醫學 및 東西醫結合 治療에 관한 文獻의 考察. *大韓韓方腫瘍學會誌.* 1996;2(1):177-91.
 29. 백태현, 류봉하, 박동원, 류기원. 반하백출천마탕과 반하백출천마탕가미방의 항암효과와 면역반응에 관한 실험적 연구. *대한한방중양학회지.* 1995;1(1):141-66.
 30. Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K., Watson JD. *Molecular Biology of The Cell.* USA: Garland Publishing. 1994, p.863-70.