

비소화합물에 의한 A549 폐암세포의 증식억제에 관한 연구

최영현* · 최우영 · 최병태¹ · 이용태² · 이원호³

동의대학교 한의과대학 생화학교실 및 한의학연구소, 1: 해부학교실, 2: 생리학교실, 3: 부산대학교 자연과학대학 생물학과

Effects of Arsenic Compounds (As_2O_3 and As_4O_6) on the Induction of Apoptotic Cell Death in A549 Human Non-small Cell Lung Cancer Cells

Yung Hyun Choi*, Woo Young Choi, Byung Tae Choi¹, Yong Tae Lee², Won Ho Lee³

Department of Biochemistry · Research Institute of Oriental Medicine, 1: Department of Anatomy,
2: Department of Physiology, Donggeui University College of Oriental Medicine, 3: Department of Biology, Pusan National University

Recently, arsenic compounds were considered as novel agents for treatment of acute promyelocytic leukemia and malignant tumors. However, it showed severe toxicity effect on normal tissue at the same time. In this study, to investigate the possible molecular mechanism (s) of arsenic compounds as candidate of anti-cancer drugs, we compared the abilities of two arsenic compounds, tetraarsenic oxide (As_4O_6) and arsenic trioxide (diarsenic oxide, As_2O_3), to induce cell growth inhibition as well as apoptosis induction in A549 human non-small cell lung cancer cells. Both As_4O_6 and As_2O_3 treatment declined the cell growth and viability of A549 cells in a concentration-dependent manner, which was associated with induction of G1 arrest of the cell cycle and apoptotic cell death. However, As_4O_6 induced growth inhibition and apoptosis in A549 cells at much lower concentrations than As_2O_3 . As_4O_6 down-regulated the levels of anti-apoptotic Bcl-2 protein, however, the levels of Bax, a pro-apoptotic protein, were up-regulated in a dose-dependent manner. In conclusion, As_4O_6 might be a new arsenic compound which may induce apoptosis in A549 cells by modulation the Bcl-2 family and deserves further evaluation.

Key words : arsenic compounds, A549, apoptosis, Bax

서 론

비소(arsenics)는 일반적으로 무색, 무미, 무취하면서 치명적인 독성을 지닌 물질로서 자연계에서는 다양한 형태로 존재하는데, 인체에 노출될 경우 피부병변, 말초혈관장애, 말초신경장애, 간 손상, 악성 종양의 유발 등을 일으킬 수 있다^{1,2}. 특히 1820년대 비소화합물이 피부암을 일으킨다는 사실이 처음 알려지게 된 후 비소화합물은 환경발암물질로 받아들이기 시작하여 인간의 피부와 폐에 있어서 co-mutagen 또는 co-carcinogen으로 여겨져 왔다³. 그러나 비소화합물은 고대 그리스-로마시대부터 인류의 질병 치료에 사용되어져 왔으며, 이중 삼산화비소(As_2O_3)나 유화비소(As_2S_3)는 오래전부터 중국에서 백혈병 치료를 위해 사용되어져 왔고, 우리나라에서도 전통적으로 한방재료로서 부분적으로

로 사용되어져 왔다^{4,5}. 비소화합물이 항암제 후보물질로서 관심을 끄는 이유는 그 구조가 간단하면서 특정 발암성 유전자 혹은 그 발현 산물에 선택적으로 작용하기 때문이지만 여전히 높은 독성과 취급상의 어려운 점 등이 해결되어야 할 과제로 남아있다.

암의 발생은 정상 세포의 성장에서 유전자의 변형이 동반되는 다단계적·복합적인 과정이다. 발암원은 표적 세포의 유전자에 돌연변이를 일으키거나 변화를 주는데, 이 세포들의 증식으로 암 세포로서의 성질을 가진 세포들로 되는 원인이 된다⁶. 따라서 암 유발 가능성을 지닌 물질의 독성을 평가하는데 세포증식 자료의 이용과 유의성이 강조되고 있으며, 암세포에서만 선택적으로 증식의 억제를 유발하거나 세포사멸(apoptosis)을 유발시키는 물질의 암세포에 대한 세포독성 정도의 평가는 항암제 개발을 위한 가장 기본적인 과정 중의 하나이다. 이러한 관점에서 세포증식과 연관된 세포주기 교란 및 apoptosis 유발 현상의 조절에 관여하는 유전자들의 발현 변화를 조사함으로써 특정 후보물질의 항암 기전을 분자생물학적 수준에서 해석할 수 있다.

* 교신저자 : 최영현, 부산시 진구 양정동 산 45-1 동의대학교 한의과대학

· E-mail : choiyh@deu.ac.kr, · Tel : 051-850-7413

· 접수 : 2005/05/18 · 수정 : 2005/06/14 · 채택 : 2005/07/14

Apoptosis에 의한 세포의 죽음은 개체의 발생단계나 DNA 손상, 바이러스 감염 등에 의한 유전적 조절 하에서 일어나는 정교한 개체의 생존을 위한 방어기전이란 점에서 necrosis와 구별된다^{7,8)}. 즉 apoptosis는 개체 보존수준에서 손상된 세포들의 제거를 위한 중요한 수단이며, 정상적인 세포주기의 이탈이나 cyclin-dependent kinases (Cdks) 활성의 변화가 apoptotic cell death의 주원인이 될 수 있다⁹⁾. Apoptosis의 유발에 종양억제 유전자 p53이나, Bcl-2 및 Bax와 같은 유전자가 관여한다는 사실이 알려지면서 apoptosis와 연관된 분자적 기전이 최근 많이 밝혀지고 있다^{10,11)}. 따라서 최근 암세포에서의 apoptosis 조절관련 기전 해석에 기초를 둔 항암제 개발이 많은 관심을 모으고 있다.

현재까지 비소화합물 중 가장 많은 관심을 가지고 항암기전 해석이 시도된 것 중의 하나가 As₂O₃이며, As₂O₃는 저농도에서 매우 효과적으로 세포주기 교란과 연관된 각종 암세포의 성장을 억제하고 apoptosis를 유발하는 것으로 보고되어져 오고 있다^{12,21)}. 또한 최근에는 As₄O₆가 As₂O₃와 같이 인체 암세포에 선택적으로 작용하여 특히 저농도에서도 apoptosis를 유도함으로써 항암작용을 나타내는 것으로 보고된바 있는데^{12,13)}, 이는 reactive oxygen species (ROS) 의존적 경로와 연관성이 있는 것으로 알려져 있다^{13,14)}. 그러나 As₄O₆의 항암기전은 여전히 알려진 바가 미비하므로 As₂O₃와 비교하여 다양한 암세포주 사이의 감수성 차이나 항암기전에 관한 구체적인 연구가 절실히 요구되어지고 있다.

본 연구에서는 선행연구들에 의해 관찰된 비소화합물의 항암작용에 관한 추가적인 작용 기전을 조사하기 위하여 두 가지 종류의 비소화합물(As₂O₃ 및 As₄O₆)이 인체 폐암세포의 증식에 미치는 감수성을 비교하였다. 또한 apoptosis 유발에 가장 중요한 인자에 해당되는 Bcl-2 family에 속하는 단백질들의 발현 변화를 비교하였다.

재료 및 방법

1. 암세포배양 및 비소화합물의 처리

본 연구에 사용된 A549 인체 폐암세포는 한국생명공학연구소에서 분주 받아 사용하였으며, 90%의 RPMI-1640 (Gibco BRL, Grand Island, NY, USA)에 10% fetal bovine serum (FBS), 1%의 penicillin 및 streptomycin (Biofluids, Rockville, MD, USA)이 포함된 배지를 사용하였다. 비소화합물인 tetraarsenic oxide (As₄O₆) 및 arsenic trioxide (diarsenic oxide, As₂O₃)는 Sigma Chemical Co. (St. Luis, MO, USA)에서 구입하였으며, 선행연구 방법과 동일한 조건에서 처리하였다²²⁾.

2. MTT assay에 의한 세포 성장억제 조사

세포배양용 6 well plate에 well 당 1 × 10⁵개의 암세포를 분주하고 24시간 동안 안정화시킨 다음 적정량의 비소화합물을 배지에 희석하였다. 48시간 후 배지를 제거하고 tetrazolium bromide salt (MTT, Sigma) 시약을 0.5 mg/ml 농도로 희석하여 200 μl씩 분주하고 3시간동안 배양하였다. 배양이 끝난 다음 MTT 시약을 제거하고 dimethylsulfoxide (DMSO, Sigma)를 100

μl씩 분주하여 well에 생성된 formazin을 모두 녹인 후 ELISA reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

3. Flow cytometry 분석

정상 및 비소화합물이 함유된 배지에서 자란 암세포들을 PBS로 두세 번 씻어내고, 고정액(70% ethyl alcohol, 0.5% Tween 20)을 첨가하여 4℃에서 고정시킨 후, DNA intercalating dye인 propidium iodide (PI, concentration, 50 μg/ml; Sigma)와 10 kunit의 RNase (Sigma)를 처리하고 4℃에서 1시간동안 염색하였다. 이를 다시 PBS로 두 번 씻어낸 후, DNA flow cytometry (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA)에 적용시켜 형광반응에 따른 histogram을 Modifit LT (Becton Dickinson) 프로그램으로 분석하였다.

4. 단백질의 분리, 전기영동 및 Western blotting

상기와 동일 방법으로 준비된 암세포들을 lysis buffer로 용해한 후, 세포 내 잔사물을 분리시키고 동량의 단백질을 SDS-polyacrylamide gel 전기영동으로 분리하였다. 분리된 단백질을 nitrocellulose membrane (Schleicher and Schuell, Keene, NH, USA)으로 전이시킨 후, 특정 단백질에 대한 항체와 그에 대한 이차 항체 반응을 실시한 후 enhanced chemiluminescence (ECL) 용액 (Amersham Life Science Corp., Arlington Heights, IL, USA)을 적용시킨 다음 X-ray film에 감광시켜 단백질의 발현 정도를 분석하였다. 본 실험에 사용된 항체들은 Santa Cruz Biotechnology Inc. (Santa Cruz, CA, USA) 및 Calbiochem (Cambridge, MA, USA)에서 구입하였으며, 이차 항체로 사용된 horseradish peroxidase-labeled donkey anti-rabbit immunoglobulin 및 peroxidase-labeled sheep anti-mouse immunoglobulin은 Amersham Corp. (Arlington Heights, IL, USA)에서 구입하였다.

결과 및 고찰

1. 폐암세포의 형태에 미치는 비소화합물의 영향

준비된 비소화합물(As₂O₃ 및 As₄O₆)을 인체 폐암세포 A549에 48시간 동안 처리한 후, 위상차 현미경을 이용하여 비소화합물에 따른 암세포의 형태 변화 여부를 관찰하였다. Fig. 1에서 알 수 있듯이 비소화합물의 처리 농도가 증가할수록 배양용 dish에 부착되어 있는 세포의 밀도가 감소하였음을 알 수 있었다. 그리고 고농도 비소화합물 처리군에서는 세포의 형태가 다양한 모습으로 변하면서 많은 암세포가 부착력을 상실하고 배지 위로 부유되는 현상도 관찰할 수 있었다. 그러나 조사된 두 종류의 비소화합물 중 As₂O₃ 처리군에서 보다 As₄O₆ 처리군에서 더욱 심하게 나타나, As₂O₃보다 As₄O₆가 암세포의 성장 억제 능력이 더 뛰어나는 것으로 추측되어진다. 아울러 비소화합물에 의한 암세포의 심각한 형태 변화는 백혈병 세포, 위암세포 등을 포함한 다른 많은 암세포주에서 보고된 것과 유사한 결과였다^{15,21,23)}

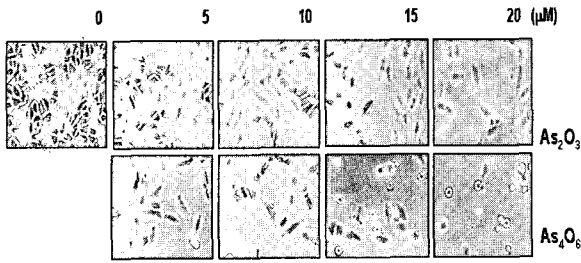


Fig. 2. Morphological changes in A549 human lung carcinoma cells following incubation with arsenic compounds. Exponentially growing cells were incubated with either vehicle alone (0) or arsenic compounds (As_2O_3 and As_4O_6) for 48 h. Cell morphology was visualized by light microscopy. Magnification, X200.

폐암세포의 증식에 미치는 비소화합물의 영향

다음은 두 종류의 비소화합물 처리에 따른 이러한 형태적인 변화가 암세포의 증식을 실제로 얼마나 저해 시키는지를 MTT assay법에 준하여 조사하였다. Fig. 2에서 알 수 있듯이 저농도 처리군에서부터 비소화합물의 종류에 따라 생존율의 정도가 매우 차이가 나기 시작하여 고농도 처리군으로 갈수록 As_2O_3 보다 As_4O_6 처리군에서의 생존율 감소 현상이 뚜렷하게 나타났다. 이러한 현상은 암세포의 형태 변화와 매우 연관성이 있는 결과로서 As_4O_6 가 As_2O_3 보다 강력한 암세포 증식 저해작용이 있음을 알 수 있었다. 이는 최근 발표된 U937 인체 백혈병 세포를 대상으로 한 As_2O_3 및 As_4O_6 의 증식억제 효과 비교에서 얻어진 결과와도 매우 비슷한 결과였다¹³⁾. 그러나 자궁경부암세포 SiHa 세포주에서는 두 종류의 비소화합물 사이에서는 유의적인 감수성 차이가 없었다¹⁴⁾. 이러한 차이점에서 비소화합물은 종류에 따라서 암세포주 마다의 감수성이 다소 차이가 날 수 있음을 알 수 있다.

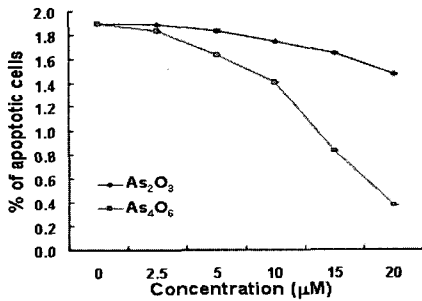


Fig. 2. Effects of arsenic compounds on the cell growth of A549 human lung carcinoma cells. Cells were seeded as described in materials and methods, and treated with various concentrations of As_2O_3 and As_4O_6 . After 48 h incubation with arsenic compounds, MTT assay was performed. Results are expressed as average from two separate experiments.

3. 폐암세포의 세포주기 진행에 미치는 비소화합물의 영향

이상의 비소화합물 처리에 따른 A549 폐암세포의 증식억제 현상이 세포주기 진행에 미치는 영향을 조사하기 위하여 동일 조건에서 준비된 세포들을 대상으로 flow cytometry 분석을 실시하였다. Fig. 3 및 Table 1에 나타난 결과에서 알 수 있듯이 정상 배지에서 자란 A549 세포의 G1기에 속하는 빈도는 62.39%였으며, S기 및 G2/M기에 속하는 세포의 빈도는 각각 17.86% 및 19.95% 정도였다. 그리고 As_2O_3 처리군에서는 처리 농도가 증가함에 따라 전체적으로 G2/M기에 속하는 세포의 빈도는 다소 감소되는 경향성을 보여 주었으며 G1기 및 S기에 속하는 세포의 빈

도는 약간 증가되었으나 뚜렷한 세포주기 교란 현상을 관찰하기는 어려웠다. 그러나 As_4O_6 가 처리된 배지에서 자란 암세포의 경우 S기에 속하는 세포의 빈도는 점차 감소되어 15 μM 처리군에서 약 10.89% 정도로 나타났다. 그리고 G2/M기에 속하는 세포의 빈도 역시 다소 감소되는 경향성을 보여주었으나, G1기에 속하는 세포의 빈도는 As_4O_6 처리 농도의 증가에 따라 다소 증가되어 10 μM 및 15 μM 처리군에서 각각 66.94% 및 73.15%로 나타났다. 즉 비소화합물 As_4O_6 처리에 의한 세포주기 교란은 G1 arrest와 다소 연관이 있었음을 알 수 있었다. 그러나 Hernandez-Zavala et al.¹⁸⁾은 HT1197 인체 방광암세포에서 sodium arsenic 처리에 의하여 S phase arrest 유발되었음을 보고한 바 있고, 전립선 암세포주 PC-3에서는 As_2O_3 처리에 의하여 G2/M기가 다소 증가되었다¹⁷⁾. 그리고 다양한 백혈병 세포주에서는 As_2O_3 처리에 의하여 G1 arrest 및 G2/M arrest가 동시에 나타났다는 보고도 있다¹⁶⁾. 따라서 비소화합물 및 암세포주의 종류에 따른 세포주기 교란 현상은 매우 다양한 결과를 보여주었음을 알 수 있었기에 이에 관한 보다 체계적인 연구가 요구된다.

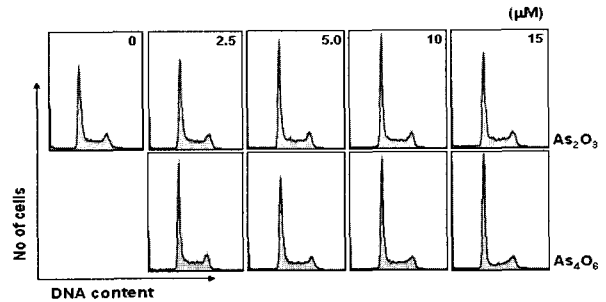


Fig. 3. Effects of arsenic compounds on the cell cycle distribution in A549 human lung carcinoma cells. Cells were incubated with As_2O_3 and As_4O_6 for 48 h and then analyzed by flow cytometry as described in materials and methods.

Table 1. Fractions of each cell cycle phase of human lung carcinoma cell line A549 cultured in the presence or absence of various concentrations of arsenic compounds (As_2O_3 and As_4O_6).

arsenic compounds (μM)	% of cell			
	G1	S	G2/M	
0 (control)	62.36	17.86	19.95	
As_2O_3	2.5	62.29	18.81	18.9
	5	61.75	20.4	17.85
	10	62.49	21.01	16.58
	15	61.77	20.55	17.68
As_4O_6	2.5	64.05	19.22	16.73
	5	66.05	17.78	16.16
	10	66.94	18.77	14.29
	15	73.15	10.89	15.96

Each phase was analyzed by flow cytometry after 48 h treatment with As_2O_3 and As_4O_6 .

4. 폐암세포의 apoptosis 유발에 미치는 비소화합물의 영향

다음은 비소화합물 처리에 따른 A549 폐암세포의 apoptosis 유발 정도를 정량적으로 분석하기 위하여 flow cytometry에 의한 세포주기의 sub-G1기에 해당하는 세포군의 빈도를 조사하였다. Fig. 4의 결과에 나타내었듯이 정상배지에서 배양된 세포의 자연적 apoptosis 유발빈도는 약 2.5% 정도였으나 비소화합물 처리 농도의 증가에 따라 sub-G1기에 속하는 세포의 빈도는 점차 증가하였다. As_2O_3 처리군의 경우 5 μM 에서는 약 5.2% 정도였으

며, 10 μM 및 15 μM 처리군에서는 각각 7.2% 및 9.7% 정도로 나타났다. 그러나 As_4O_6 처리의 경우 10 μM 및 15 μM 처리군에서 각각 23.0% 및 38.5% 정도로서는 이는 As_2O_3 처리군에서 보다 약 3.2배 및 4.0배 높은 빈도로서, apoptosis 유발에 As_4O_6 처리의 경우 10 μM 및 15 μM 처리군에서 각각 23.0% 및 38.5% 정도로서 As_4O_6 가 As_2O_3 보다 매우 효과적으로 암세포의 apoptosis를 유발시켰음을 알 수 있었다. 이러한 결과는 Fig. 1 및 2에서 보여준 두 비소화합물 감수성의 차이와 매우 일치되는 결과였다. 이는 U937 인체 백혈병 세포를 대상으로 한 As_2O_3 및 As_4O_6 의 apoptosis 유발 차이에서 얻어진 결과와도 유사하였지만¹⁹⁾, 자궁경부암세포 SiHa 세포주에서는 apoptosis 유발의 정도는 큰 차이점이 없었다¹²⁾.

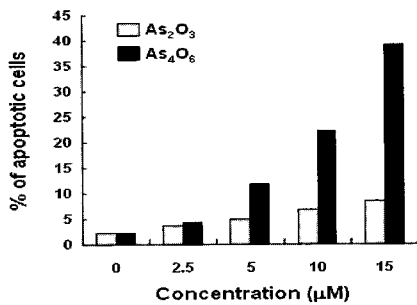


Fig. 4. Increased sub-G1 population by arsenic compounds treatment in A549 human lung carcinoma cells. Cells were incubated with arsenic compounds for 48 h and then analyzed by flow cytometry as described in materials and methods. Results are expressed as average from two separate experiments.

5. 폐암세포의 Bcl-2 family 발현에 미치는 비소화합물의 영향

상기의 결과들에서 알 수 있듯이 감수성의 차이는 있으나 비소화합물이 함유된 배지에서 자란 폐암세포의 성장 억제는 apoptosis 유발과 밀접한 관련성이 있음을 알 수 있었다. 따라서 비소화합물, 특히 As_4O_6 의 처리에 의한 암세포의 성장억제 및 apoptosis 유발에 관여하는 유전자의 탐색을 위하여 Bcl-2 family에 속하는 대표적 유전자인 Bax 및 Bcl-2 단백질의 발현 변화 여부를 Western immunoblotting 방법으로 조사하였다. Fig. 5에 나타난 바와 같이, As_2O_3 처리군에서 두 단백질의 큰 발현 변화를 관찰하기 어려웠으나, As_4O_6 가 처리된 A549 세포에서는 Bax의 발현이 약간 증가하면서 Bcl-2의 발현이 다소 감소되어 Bcl-2에 대한 상대적인 Bax 단백질의 발현이 증가되었음을 알 수 있었다.

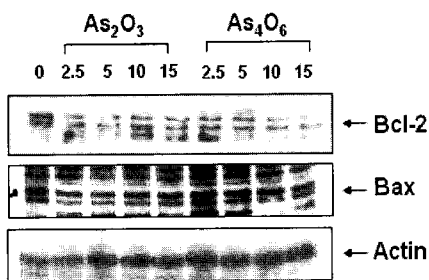


Fig. 5. Effects of arsenic compounds on the levels of Bax and Bcl-2 protein in A549 human lung carcinoma cells. Cells were incubated with As_2O_3 and As_4O_6 for 48 h, and then lysed and cellular proteins were separated by 12% SDS-polyacrylamide gels and transferred onto nitrocellulose membranes. The membranes were probed with anti-Bax and anti-Bcl-2 antibodies. Proteins were visualized using ECL detection system. Actin was used as a loading control.

Bcl-2 family에 속하는 대표적인 단백질인 이들 중 Bcl-2는 anti-apoptotic 분자로서 apoptosis의 유발을 억제하는 기능을 가지며, Bax는 pro-apoptotic 분자로 apoptosis의 유발과 관계가 있다^{10,11)}. 이들은 세포 내 소기관 중 mitochondria로부터의 cytochrome c를 유리시켜 종양억제 유전자인 p53, cysteine-related protease인 caspase, DNA의 단편화와 연관된 endonuclease 등의 활성을 조절한다. 그리고 이들은 서로 dimer의 형태로 존재하며 그들의 발현 수준에 변화가 초래되면 apoptosis가 유발되는 것으로 알려져 있기 때문에 두 단백질의 상대적인 발현의 양적인 차이가 apoptosis 유발에 가장 중요한 요인으로 작용한다.

Lau et al.¹⁹⁾은 본 연구의 결과와 유사하게 쥐의 폐에서 유래된 LEC 세포에서 sodium arsenic의 처리에 의한 apoptosis 유발은 Bcl-2 단백질 발현의 억제 및 Bax 단백질 발현의 상승과 관계가 있다고 보고한 바 있다. 그리고 다양한 종류의 백혈병 세포주에서 As_2O_3 처리에 의한 apoptosis 유발에서도 Bcl-2 단백질 발현의 감소 및 Bax의 증가에 의한 caspase-3 활성화와 연관성이 있는 것으로 알려져 있으며¹⁶⁾, Sordet et al.²⁰⁾의 보고에 의하면 인체 promyelocyte NB4 세포에서 As_2O_3 에 의한 apoptosis 유발은 caspase-3의 활성화와 연관이 있었다. 그리고 Zhang 및 Shen²³⁾은 인체 백혈병 세포주에서 As_2O_3 에 의한 apoptosis 유발이 Bcl-2 antisense oligodeoxynucleotide 처리로 더욱 상승효과가 있었다. 그러나 Zhu et al.¹⁵⁾은 NB4 세포에서 As_2O_3 에 의한 apoptosis 유발은 CD95/CD95L system이 관여된 caspase-8 및 caspase-3의 활성화에 의한 것이라고 보고한 바 있다. 즉 이상의 결과에서 비소화합물에 의한 apoptosis 유도에 기본적으로는 미토콘드리아를 둘러싼 Bcl-2 family에 속하는 유전자들의 발현 변화가 직접 관여하지만 암세포의 종류에 따라 다양한 기전들이 관여하는 것으로 추정된다.

따라서 본 결과와 선행 연구들의 비교에서 알 수 있듯이, 비소화합물 처리에 의한 암세포의 증식억제에는 비소화합물의 종류 및 암세포의 종류에 따라 세포독성 감수성이나, 세포주기 교란 및 apoptosis 유발에 관한 기전은 매우 다양함을 알 수 있었다. 그러나 본 연구의 결과만으로 비소화합물의 항암작용 여부를 직접적으로 논하기에는 매우 어렵기 때문에 다양한 추가적인 실험이 필수적으로 수행되어야 할 것이며 본 연구의 결과는 향후 수행될 추가 실험을 위한 기초 자료로서 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

결 론

최근 항암제로서의 사용 가능성이 제시되고 있는 비소화합물(As_2O_3 및 As_4O_6)의 암세포 성장억제 기전을 인체 폐암세포 A549 세포주를 대상으로 조사하였다. 그 결과 비소화합물 처리 농도 의존적으로 A549 폐암세포의 세포형태 변형 및 생존율은 현저하게 감소되었으나, As_2O_3 보다는 As_4O_6 가 더 우수한 항암력을 보였다. A549 세포에서 비소화합물에 의한 암세포의 증식억제는 세포주기 G1 arrest와 다소 관련성이 있는 것으로 추정된다. 또한 비소화합물 처리에 의한 A549 암세포 증식억제는 apoptosis 유발과 밀접한 관련성이 있었으며, 생존율의 결과에서처럼 As_4O_6 처리군에서 As_2O_3 처리군 보다 훨씬 강력한

apoptosis 유발 효과가 있었다. 특히 As_4O_6 처리군에서 anti-apoptotic Bcl-2의 단백질 발현은 처리 농도 의존적으로 감소하였으며, pro-apoptotic Bax의 발현은 상대적으로 증가되었다. 이상의 결과에서 비소화합물에 의한 암세포의 생존을 저하는 apoptosis 조절에 중요한 유전자들의 선택적 발현 조절을 통한 apoptosis 유발과 밀접한 관련이 있었음을 알 수 있었다.

참고문헌

- Chen, C.J., Kuo, T.L., Wu, M.M. Arsenic and cancers. *Lancet* 1, 414-415, 1988.
- Tseng, C.H., Tseng, C.P., Chiou, H.Y., Hsueh, Y.M., Chong, C.K., Chen, C.J. Epidemiologic evidence of diabetogenic effect of arsenic. *Toxicol. Lett.* 133, 69-76, 2002.
- Ding, M., Shi, X., Castranova, V., Vallyathan, V. Predisposing factors in occupational lung cancer: inorganic minerals and chromium. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 19, 129-138, 2000
- Murgo, A.J., McBee, W.L., Cheson, B.D. Clinical trials referral resource. *Clinical trials with arsenic trioxide. Oncology (Huntingt)* 14, 206, 211, 215-216, 2000.
- Hussein, M.A. Arsenic trioxide: a new immunomodulatory agent in the management of multiple myeloma. *Med. Oncol.* 18, 239-242, 2001.
- Soto, A.M., Sonnenschein, C. The somatic mutation theory of cancer: growing problems with the paradigm? *Bioessays* 26, 1097-1107, 2004.
- Arends, M.J., Morris, R.G., Wyllie, A.H. Apoptosis. The role of the endonuclease. *Am. J. Pathol.* 136, 593-608, 1990.
- Evans, V.G. Multiple pathways to apoptosis. *Cell Biol. Int.* 17, 461-476, 1993.
- Shi, L., Nishioka, W.K., Th'ng, J., Bradbury, E.M., Litchfield, D.W., Greenberg, A.H. Premature p34cdc2 activation required for apoptosis. *Science* 263, 1143-1145, 1994.
- Chiarugi, V., Magnelli, L., Basi, G. Apoptosis and the cell cycle. *Cell. Mol. Biol. Res.* 40, 603-612, 1994.
- Nagata, S. Apoptosis by death factor. *Cell* 88, 355-365, 1997.
- Ahn, W.S., Bae, S.M., Lee, K.H., Kim, Y.W., Lee, J.M., Namkoong, S.E., Lee, I.P., Kim, C.K., Seo, J.S., Sin, J.I., Kim, Y.W. Comparison of effects of As_2O_3 and As_4O_6 on cell growth inhibition and gene expression profiles by cDNA microarray analysis in SiHa cells. *Oncol. Rep.* 12, 573-580, 2004.
- Park, W.H., Seol, J.G., Kim, E.S., Hyun, J.M., Jung, C.W., Lee, C.C., Kim, B.K., Lee, Y.Y. Arsenic trioxide-mediated growth inhibition in MC/CAR myeloma cells via cell cycle arrest in association with induction of cyclin-dependent kinase inhibitor, p21, and apoptosis. *Cancer Res.* 60, 3065-3071, 2000.
- Hei, T.K., Filipic, M. Role of oxidative damage in the genotoxicity of arsenic. *Free Radic. Biol. Med.* 37, 574-581, 2004.
- Zhu, J., Okumura, H., Ohtake, S., Nakamura, S., Nakao, S. Arsenic trioxide induces apoptosis in leukemia/lymphoma cell lines via the CD95/CD95L system. *Oncol. Rep.* 10, 705-709, 2000.
- Park, I.C., Park, M.J., Woo, S.H., Lee, H.C., An, S., Gwak, H.S., Lee, S.H., Hong, S.I., Bae, I.J., Seo, K.M., Rhee, C.H. Tetraarsenic oxide induces apoptosis in U937 leukemic cells through a reactive oxygen species-dependent pathway. *Int. J. Oncol.* 23, 943-948, 2003.
- Maeda, H., Hori, S., Nishitoh, H., Ichijo, H., Ogawa, O., Kakehi, Y., Kakizuka, A. Tumor growth inhibition by arsenic trioxide (As_2O_3) in the orthotopic metastasis model of androgen-independent prostate cancer. *Cancer Res.* 61, 5432-5440, 2001.
- Hernandez-Zavala, A., Cordova, E., Del Razo, L.M., Cebrian, M.E., Garrido, E. Effects of arsenite on cell cycle progression in a human bladder cancer cell line. *Toxicology* 207, 49-57, 2005.
- Lau, A.T., Li, M., Xie, R., He, Q.Y., Chiu, J.F. Opposed arsenite-induced signaling pathways promote cell proliferation or apoptosis in cultured lung cells. *Carcinogenesis* 25, 21-28, 2004.
- Sordet, O., Liao, Z., Liu, H., Antony, S., Stevens, E. V., Kohlhagen, G., Fu, H., Pommier, Y. Topoisomerase I-DNA complexes contribute to arsenic trioxide-induced apoptosis. *J. Biol. Chem.* 279, 33968-33975, 2004.
- Zhang, T.C., Cao, E.H., Li, J.F., Ma, W., Qin, J.F. Induction of apoptosis and inhibition of human gastric cancer MGC-803 cell growth by arsenic trioxide. *Eur. J. Cancer* 35, 1258-1263, 1999.
- Chun, Y.J., Park, I.C., Park, M.J., Woo, S.H., Hong, S.I., Chung, H.Y., Kim, T.H., Lee, Y.S., Rhee, C.H., Lee, S.J. Enhancement of radiation response in human cervical cancer cells in vitro and in vivo by arsenic trioxide (As_2O_3). *FEBS Lett* 519(1-3):195-200, 2002..
- Zhang, Y., Shen, W.L. Bcl-2 antisense oligodeoxynucleotide increases the sensitivity of leukemic cells to arsenic trioxide. *Cell Biol. Int.* 27, 953-958, 2003.