

법제 옷나무 추출물의 혈관형성저해 및 항암효과에 관한 연구

최원철¹ · 이재호¹ · 이은옥¹ · 이효정¹ · 윤성우² · 안규석² · 김성훈^{1,2*}

1:경희대학교 동서의학대학원, 2:경희대학교 한의과대학

Study on Antiangiogenic and Antitumor Activities of Processed Rhus verniciflua Stokes extract

Won Cheol Choi¹, Jae Ho Lee¹, Eun Ok Lee¹, Hyo Jung Lee¹, Sung Woo Yoon²,
Kyo Seok Ahn², Sung Hoon Kim^{1,2*}

1:Department of East-West Medicine, Graduate School of East-West Medical Science, Kyunghee University.

2:Department of Oriental Pathology, College of Oriental Medicine, Kyunghee University

Rhus verniciflua Stokes has been used for treatment of blood stasis and abdominal mass in Oriental medicine. Rhus verniciflua Stokes has been experimentally reported to exert antioxidant, antiproliferative, antithrombotic and apoptotic activities. In the present study, the antiangiogenic and in vivo antitumor activities of aqueous extract of processed Rhus verniciflua Stokes (Nexia) by heat were examined to elucidate its anticancer mechanism. Nexia showed weak cytotoxicity against human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) and Lewis lung carcinoma cells (LLC) with IC50 of ~200 µg/ml and >200 µg/ml, respectively. Nexia significantly inhibited the proliferation and migratory activity in vascular endothelial growth factor(VEGF) treated HUVEC. Furthermore, Nexia effectively suppressed the tumor volume in A549 nonsmall lung cancer bearing athymic nude mice, CanN. Cg-Foxn 1nu/CrljBgi up to 40.7% as well as tumor weight incised from LLC cells inoculated into the flank of C57BL/6 mice up to ~50% compared with untreated control at a dose of 300 mg/kg. Taken together, these results suggest that processed Rhus verniciflua Stokes may inhibit the growth of Lewis lung carcinoma cells partly via inhibition of angiogenesis and can be potently applied to angiogenesis dependent cancers. However, it still needs a further research on molecular mechanism, angiogenesis animal study and clinical trial in future.

Key words : processed Rhus verniciflua Stokes, HUVEC, A549, LLC, angiogenesis, tumor growth

서 론

종양은 조직의 자율적인 과잉성장으로 개체에 의의가 없거나 이롭지 않고 정상 조직에 대해서 파괴적인 것으로, 임상 및 병리 형태적인 소견에 의해 양성종양과 악성종양으로 구분된다¹⁾. 양성종양은 비교적 서서히 일정한 속도로 성장하며 신체 여러 부위에 확산 즉 전이를 일으키지 않을 뿐 아니라 제거하면 완전히 치유될 수 있다. 이에 반해 악성종양은 불규칙하고 빠른 성장을 하며, 침윤성 혹은 침입성 성장으로 주위 정상조직을 파괴하고 체내 여러 부위로 확산 및 전이를 일으켜 정상세포를 파괴하므로 생명을 위협한다. 진행성 암의 경우 타 장기에 원격 전이가

* 교신저자 : 김성훈, 서울시 동대문구 회기동 1번지, 경희대학교 한의과대학

· E-mail : sungkim7@khu.ac.kr, · Tel : 031-201-2179

· 접수 : 2006/07/08 · 수정 : 2006/07/31 · 채택 : 2006/08/14

되는데 수술요법, 항암요법 및 방사선요법의 한계가 있다.

한의학에서 악성종양은 다양한 병증으로 인식되어 왔는데 위암은 噎膈, 反胃로 유방암은 妒乳, 乳癰으로 갑상선암은 石癭과 失榮으로 자궁암은 癥瘕, 崩漏 등으로 표현되었다²⁾. 백혈병은 癩毒, 衄血, 虛勞, 血痺의 범주에 속하는데³⁾ 한⁴⁾, 김⁵⁾, 최⁶⁾ 등은 痞氣丸, 伏梁丸과 大棗, 冬蟲夏草, 無花果, 鱉甲, 側柏葉, 補骨脂를 백혈병 세포에 대한 항암실험을 통해 유의한 효과를 보고하였고 孫⁷⁾ 등은 益氣養陰解毒湯을 급성 골수성 백혈병 환자에게 활용하여 65.4%의 증상 호전을 및 김 등^{8,9)}은 가미계격탕이 폐암에 부작용이 없으며 유효한 항암효과를 보였다고 보고하는 등 암의 예방과 치료를 위한 한약 활용이 증가하고 있다.

옷(乾漆)은 한의학에서 性味가 辛溫鹹하고 肝脾胃大小腸, 으로 歸經하며 주로 血분에 작용하여 破血하고 胃腸의 積滯를 消散시키므로 주로 瘀血, 積聚, 癥瘕 및 冷心痛 등에 주로 활용되어

왔으며, 최근 암치료 활용 가능성이 제기되었다¹⁰⁻¹¹⁾. 그 후 옷나무 추출물 및 성분이 실험적으로 세포증식억제¹²⁻¹³⁾, 자연고사 유도작용¹⁴⁾, 항혈전¹⁵⁾ 및 항산화 작용¹⁶⁻¹⁷⁾ 등이 있다고 보고되었다. 그러나 옷나무의 주요성분인 urushiol이 유발하는 T 세포 매개성 면역반응은 옷나무 추출물의 임상적 응용에 많은 제약을 주는 부분이 되었다. 따라서 본 연구에서는 옷나무 껍질을 고압상태에서 열처리를 하여 알레르기 반응 유발물질을 제거한 옷나무 추출물(Nexia)을 시료로 사용하여, 사람제대내피세포에 대한 세포독성, 증식, 이동능 등의 혈관형성작용과 Lewis 폐암주를 이용한 동물실험에서 종양증식 억제효과를 살펴보는 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 옷나무 추출물의 제조

본 실험에서 사용한 옷나무는 대한민국 강원도 횡성지역에서 재배된 것으로 수령 10년에서 15년생을 채취하여 건조 후 사용하였으며 알러지 유발특성의 제거하기 위해 대한민국 특허 0504160에 기재된 방법에 의하여 처리하여 옷나무 추출물을 만들었으며, 온도는 90~95℃, 용매의 부피는 10배수, 압력은 1기압 이하, 시간은 6시간 이상, 원료의 성상은 톱밥, 사용용매는 물 또는 60% 에탄올을 이용하여 추출하여 실험에 사용하였다.

2. 세포 및 배양

사용된 암 세포는 LLC(Lewis lung carcinoma)을 RPMI 1640 과 10 % FBS 배지에서 배양하였고, 혈관 형성 관련 실험은 HUVEC(human umbilical vein endothelial cell) 세포를 일차 배양하여 실험 하였다. HUVEC의 배지는 M199 media와 10 % FBS, 3 ng/ml bFGF, 10 unit heparin 이 포함된 배지에서 배양하여 사용하였다.

3. 세포독성능 측정

세포독성 측정은 2,3-bis[2-methoxy-4-nitro-5-sulfo]-2H-tetrazolium-5-carboxanilide (XTT) 방법을 이용하였다. 사람의 제대로부터 분리한 혈관내피세포(HUVEC)를 0.1% gelatin이 코팅된 96-well 플레이트에 1×10^4 으로 분주하였다. 24시간 배양시킨 후 5% heat-inactivated fetal bovine serum(FBS)만 첨가된 M199배지로 물질을 농도별로 희석하여 100 μ l씩 첨가하여 24시간 배양시켰다. 1 ml XTT (1 mg/ml in PBS) stock solution과 10 μ l PME (1.53 mg/ml in PBS)를 혼합 후 50 μ l를 각 well당 첨가하여 배양 후 microplate reader (Molecular Device Co.) 450 nm에서 흡광도를 측정 후 대조군과 비교하여 세포의 생존율을 계산하였다.

4. HUVEC 증식능 측정

증식능 측정도 사람의 제대혈관 내피세포(HUVEC)에 vascular endothelial growth factor(VEGF)를 처리한 후 XTT 방법을 이용하였다. 사람의 제대로부터 분리한 혈관내피세포를 0.1% gelatin이 코팅된 96-well plate에 5×10^3 으로 분주하였다. 24

시간 배양시킨 후 5% heat-inactivated FBS만 첨가된 M199 배지로 6시간 동안 starvation시켰다. 5% heat-inactivated FBS, 10 ng/ml VEGF와 5 units/ml heparin이 첨가된 M199 배지로 Nexia를 농도별로 희석하여 100 μ l씩 첨가하여 48시간 동안 배양시켰다. 1 ml XTT (1 mg/ml in PBS) stock solution과 10 μ l PME (1.53 mg/ml in PBS)를 혼합 후 50 μ l를 각 well당 첨가하여 배양 후 microplate reader (Molecular Device Co.) 450 nm에서 흡광도를 측정 후 대조군과 비교하여 세포의 생존율을 계산하였다.

5. HUVEC 이동능 측정

이동능의 측정은 wound healing assay⁴⁾를 변형하여 사용하였다. 사람의 제대로부터 분리한혈관내피세포를 0.1% gelatin이 코팅된 6-well plate에 3×10^5 으로 분주하였다. 24시간 배양후 6-well 중양을 yellow tip으로 그어서 세포를 제거하였다. 5% heat-inactivated FBS, 10 ng/ml VEGF와 5 units/ml heparin이 첨가된 M199 배지로 Nexia를 농도별로 희석하여 100 μ l씩 첨가하여 17시간 동안 배양시켰다. 17시간이 지난 후 배지를 제거한 후 PBS로 washing 해 주었다. Fixing solution으로 세포를 고정하고 Diff-quick II로 염색한 후 현미경으로 촬영하였으며 yellow tip으로 긁은 면적대로 이동한 세포수를 계산하여 대조군과 비교하여 유의성을 계산하였다.

6. 종양증식모델

먼저 누드마우스를 이용한 종양동물 실험으로는 사람 비소세포암주인 A549를 5×10^5 씩 누드마우스(Immunodeficient mice(male), CanN. Cg-Foxn1nu/CrljBgi)의 피하에 주사하고, 실험군은 음성대조군, 저용량군 넥시아군, 중용량군 넥시아군, 고용량군 넥시아군 및 양성대조군(gemcitabine)으로 구분하였으며, 각군은 7마리의 누드마우스를 배정하였다. Nexia 투여군은 50 mg/kg, 150 mg/kg, 300 mg/kg 용량으로 24일간 경구 투여하였으며, 양성대조군은 100 mg/kg의 용량으로 종양이식 후 1일 8일 및 15일째 복강주사였다. 그 후 투여기간 중 1주에 2회씩 caliper로 종양의 장축과 단축을 측정하여 다음과 같은 계산식으로 종양용적을 계산하였으며, 27일째 종양을 제거하고 무게를 측정하였다. 종양크기 계산식은 $V(\text{mean tumor volume, mm}^3) = AB^2/2$ (A=장축길이, B=단축길이)을 이용하였다. 또한 LLC를 이용한 동물실험도 C57BL6 mouse 를 오른쪽 등과 뒷다리 부분의 털을 제거하고, LLC를 $5 \times 10^5/200\mu$ l 로 PBS에 준비하여 1ml 주사기로 오른쪽 다리 빈공간에 피하주사 방법으로 암세포를 주입하였다. 5 일 후 암이 생긴 것을 확인한 후 군을 나누었다. 매일 옷나무 추출액을 경구로 100mg/kg과 300mg/kg 용량으로 투여하였으며, 대조군은 PBS를 0.2ml 씩 먹였다. 3일마다 caliper를 이용하여 암의 무게와 크기를 측정하였고, 투여 14 일 후 쥐를 희생시켜 암종을 제거하고 암의 크기와 무게를 측정하였다.

7. 통계처리

실험결과들은 Mean \pm SD와 Mean \pm SE로 나타내었고, 통계 처리는 student t-test를 실시하여 p<0.05를 기준으로 하여 유의

성 여부를 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 옷나무 추출물(Nexia)의 제조수율

옷나무 추출물은 현실적으로 적용 가능한 입자크기를 만드는 방법으로 옷나무 톱밥을 선택하였다. 톱밥의 크기는 칩상(chip shape)과 비교하여 통상적으로 얻어지는 톱밥(sawdust shape)으로 하였다. 칩상과 톱밥상은 각각 2%와 8.1%로 수율이 나타나 톱밥상 추출물의 수율이 칩사에 비해 4배정도 좋은 것으로 나타났다. 추출에 적합한 조건은 추출온도는 90~95 ℃, 용매의 배수는 10 배수, 시간은 6 시간으로 하였다. 최적의 추출시간은 추출온도에 따라 달라지며 80~100 ℃의 경우 적절한 추출시간은 4시간이 가장 적절한 것으로 본다.

용매에 따른 추출수율은 40%와 60% 에탄올에서 가장 높게 나타났으며 추출시간을 고려한다면 60% 에탄올에서 가장 효율적이라고 판단할 수 있다. 특히 100% 에탄올에서 추출수율이 현저히 낮은 것은 친수성의 물질들이 추출되지 못함으로 해서 전체적으로 수율이 떨어진 것으로 사료된다.

2. 옷나무 추출물(Nexia)의 세포독성 효과

In vitro 세포독성 측정에서 옷나무 추출물을 처리한 경우 50 % 억제농도(IC50)는 A549에서 68.8 µg/ml, K562에서 81.0 µg/ml, KATO III에서 77.3 µg/ml, SK-OV-3에서 165.2 µg/ml, U937과 HUVEC에 대해 약 200 µg/ml로 나타났으며, LLC에 대해서도 200µg/ml이상의 약한 독성을 나타냈다. 따라서 혈관형성저해실험에서는 독성이 없는 농도를 택하여 실험하였다.

3. 옷나무 추출물(Nexia)의 VEGF처리 HUVEC의 증식억제효과

혈관형성을 억제하는 방식은 세 가지로 분류된다. 첫째, 암세포로부터 분비되는 angiogenic factor의 분비를 억제 혹은 이미 분비된 angiogenic factor를 중화시키거나, 둘째로 vascular endothelial cell proliferation 혹은 migration을 억제하거나, 셋째로 vessel basement membrane의 합성을 억제하는 방법이 가능하다¹⁷⁾. 그리하여 혈관신생인자들로 유도한 HUVEC에서의 Nexia 처리시 증식억제효과를 보기위해 먼저 HUVEC에서의 세포독성을 바탕으로 검증하였다¹⁸⁾. Fig. 1에 나타난 바와 같이 HUVEC에 대해 VEGF를 처리할 경우 정상군에 비해 66%의 증식이 나타난 양성대조군에 비해, Nexia 처리군에서는 120µg/ml의 농도에서 유의성 있는 증식억제 효과를 보였다.

4. 옷나무 추출물(Nexia)의 VEGF처리 HUVEC의 이동능(migration 활성) 억제효과

HUVEC에 VEGF를 처리하고 window scrape 방법을 사용하였다. Fig. 2에 나타난 것 과 같이 window scrape후에 VEGF에 의해 이동하여 세포가 가득찬 대조군에 비해 Nexia 50µg/ml과 100µg/ml는 유의성 있게 HUVEC의 이동성을 억제하는 효과를 보였다.

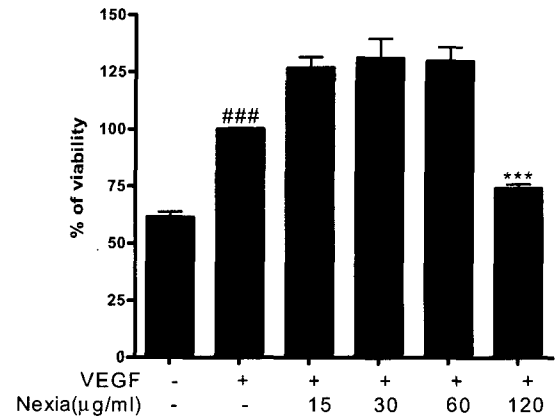
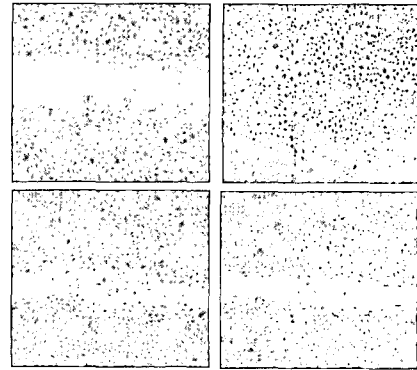


Fig. 1. Effect of Nexia on the proliferation of HUVEC stimulated by VEGF. ### p<0.001 compared with negative control, *** p<0.001, ** p<0.01 compared with VEGF

A)



B)

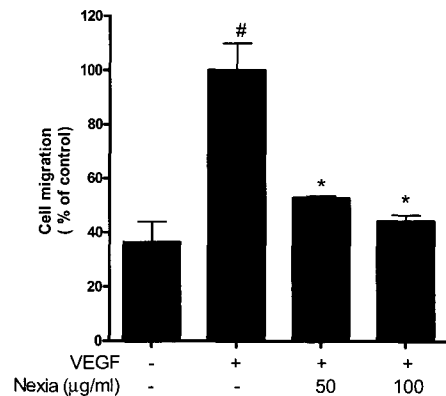


Fig. 2. Effect of Nexia on the migratory activity of VEGF stimulated HUVEC. (A) Photographs of migrated cells in window scraped field: Left upper (Negative control), Right upper(VEGF alone), Left Lower(VEGF+ 50µg/ml Nexia), Right Lower(VEGF+ 100µg/ml Nexia) (B) Graphs of effect of Nexia on the migratory activity.

5. 옷나무 추출물(Nexia)의 A549 및 LLC암주를 이식한 생쥐에 대한 항암효과

본 시험은 Nexia의 항암효과를 보기 위하여 누드마우스를 이용한 사람유래폐암세포(A549)의 이식모델(xenograft model)을 선택하였고, 시험물질을 투여하여 그에 대한 효능을 평가하고자

실시하였다.

시험물질을 투여하기 전에 비소세포암주(non-small lung cancer cell)로 알려진 A549 세포를 누드마우스에 이식하여 종양을 형성시키고, 생성된 종양을 다시 누드마우스에 재이식을 하여 이식모델을 만들었다. 시험물질을 투여하는 동안 시험물질에 의하여 특이한 일반증상이나 비정상적인 체중의 변화는 없었다 (data not shown). 실험군은 음성대조군, 저용량군 넥시아군, 중용량군 넥시아군, 고용량군 넥시아군 및 양성대조군(gemcitabine)으로 구분하였으며, 각군은 7마리의 누드마우스를 배정하였다. 넥시아 투여군에서는 50 mg/kg, 150 mg/kg, 300 mg/kg 용량으로 24일간 경구 투여하였으며, 양성대조군은 100 mg/kg의 용량으로 종양이식 후 1일 8일 및 15일째 복강주사였다. 그 후 27일째 적출 종양의 평균용적은 각각 $613.98 \pm 358.99 \text{mm}^3$, $536.53 \pm 318.04 \text{mm}^3$, $570.80 \pm 197.43 \text{mm}^3$, $364.18 \pm 162.24 \text{mm}^3$ 및 $449.58 \pm 187.67 \text{mm}^3$ 등으로 나타나 음성대조군에 비해 각각 12.6%, 7.0%, 40.7% 및 26.8%의 억제효과를 보였다(Fig. 3). 종양을 적출하기 전 캘리퍼스로 측정된 결과와 종양을 분리하여 측정된 결과에서 약간의 차이는 나타났지만 통계학적으로 유의하지는 않았고($p > 0.05$) 용량의존적은 아니었다.

그리고 양성대조물질로 사용한 gemcitabine의 경우 최종적인 데이터만을 볼 경우 시험물질보다 종양의 성장억제가 적은 것으로 나타났다. 하지만 투여를 시작한 후 1, 8 및 15 일째의 경우 억제정도가 뚜렷이 나타나다가 투여를 시작한 후 25 일째에 측정된 결과부터 고품양의 크기가 급속도로 증가한 것을 볼 수 있다. 이것은 양성대조물질이 체내에서 모두 소실되어 더 이상 고품양의 성장에 영향을 줄 수 없어 나타난 현상으로 이해된다. 이상의 결과를 보았을 때 본 시험모델에서 Nexia는 고용량군(300 mg/kg)에서 가장 항암효과가 있는 것으로 나타났다.

이와같은 결과를 확인하기 위한 다른 동물실험으로 C57BL6 마우스에 LLC를 투여한 경우에도 14일 이후에 고용량군 (300 mg/kg)에서는 대조군의 50%까지 종양의 무게를 억제하는 효과를 보였지만, 100 mg/kg에서는 대조군의 10% 정도밖에 종양증식을 억제하지 못하여 비교적 유사한 결과를 보였다 (Fig. 4). 이러한 결과는 소동물실험에서 나타난 결과를 바탕으로 사람을 대상으로 한 임상시험의 경우에도 적절한 용량 선택이 중요함을 시사하고 있다.

또한 Nexia는 LLC나 A549암세포주에 대해 독성이 약하고 자연고사를 유도하는 DNA 분절이나 sub G1 peak를 증가하는 효과를 보이지 않았으나, 상대적으로 HUVEC에 대해 독성이 없는 농도에서 혈관형성 저해효과를 보여, 특히 LLC 암주에 대한 종양증식 억제효과는 혈관형성저해 작용이 중요한 역할을 하고 있는 것으로 추정된다. 그러나 혈관형성에 관한 동물실험을 통해 검증할 필요가 있고, 분자생물학적으로도 지속적인 연구가 필요할 것으로 본다. 그러나 Kim 등¹²⁾은 율나무 에타놀층 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 AGS 위암주에 대해 p27Kip1발현을 통해 apoptosis를 유도한다고 하였고, Kitts 등¹³⁾은 BNL CL2 마우스 간세포에 대해 미토콘드리아 의존성 apoptosis를 유도한다고 보고하였고, Lee 등¹⁴⁾도 protocatechuic acid, fustin, fisetin, sulfuretin, and butein

등을 포함하는 율나무 추출 flavonoid층이 사람의 osteosarcoma에 대해 capsapase-8, cytochrome c등을 활성화시키고, Bcl-2를 억제하며 apoptosis를 유도한다고 보고한 바가 있다. 이러한 보고와 다르게 본 연구에서 Nexia는 폐암주에 대해 apoptosis효과를 보이지는 않았지만 독성이 없는 농도에서 혈관형성 저해효과를 보인 점이 주목된다.

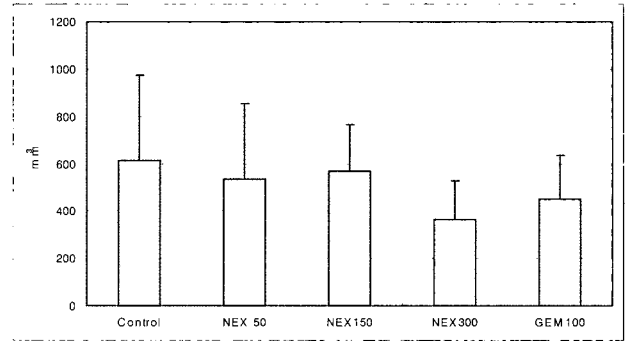


Fig. 3. Inhibitory effect of Nexia on the growth of A549 cells in athymic nude mice

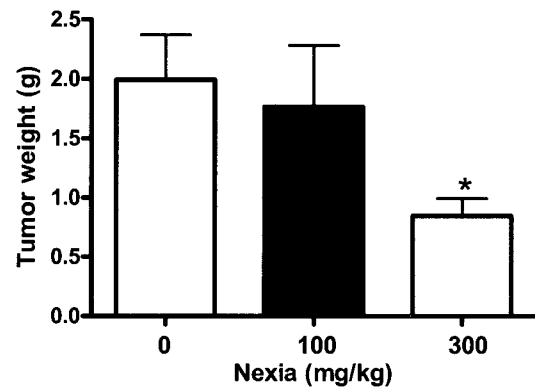


Fig. 4. Nexia treatment reduced tumor weight in LLC bearing mice. All mice were sacrificed 14 days after LLC cells inoculation and tumors were removed and weighed. All data were expressed as means±S.D. (n=5). The statistically significant differences between control and Nexia treated groups were calculated by Student's test (* $p < 0.05$).

결론

율나무를 고열로 처리하여 법제하고 물추출한 Nexia의 항암 활성 기전을 밝히기 위해 연구를 통해 다음과 같은 결론을 얻었다.

Nexia의 추출의 최적조건으로는 온도는 90~95°C, 용매의 부피는 10배수, 압력은 1기압 이하, 시간은 6시간 이상, 원료의 성상은 톱밥, 사용용매는 물 또는 60% 에탄올이었으며, 표준화를 위한 지표물질로는 urushiol과 플라보노이드 성분인 fusetin, fisetin, sulfuretin, butein 등이 HPLC 분석을 통해 확인되었다. Nexia는 A549, K562, KATO III, SK-OV-3, LLC 및 HUVEC에 대한 세포독성에서 각각 68.8 $\mu\text{g/ml}$, 81.0 $\mu\text{g/ml}$, 77.3 $\mu\text{g/ml}$, 165.2 $\mu\text{g/ml}$, >200 $\mu\text{g/ml}$ 및 ~200 $\mu\text{g/ml}$ 의 IC50을 나타내어 비교적 세포독성은 강하지 않았다. Nexia는 VEGF 처리한 HUVEC에 대

해 증식 및 이동능을 유효하게 억제하였다. Nexia는 300mg/kg의 용량에서 A549암주를 이식한 누드 마우스의 종양 용적을 40.7%, LLC 암주를 이식한 C57BL6 마우스의 종양무게를 대조군에 비해 ~50% 억제효과를 보였다.

이상의 결과로 보아 고온 처리한 율나무의 물추출물인 Nexia의 폐암주에 대한 항암효과는 혈관형성저해작용과 밀접한 상관이 있을 것으로 추정되어, 임상에서 혈관형성저해와 관련된 암종에 활용 가능할 것으로 사료된다. 그러나 Nexia를 활용한 혈관형성저해 동물실험, 조직면역염색, 분자생물학적 기전 및 임상 시험연구가 지속되어야 할 것으로 사료된다.

참고문헌

- 대한병리학회. 병리학. 서울, 고문사, pp 989-9992, 2002.
- 최승훈. 동의종양학. 행림서원, pp 1-24, 65-74, 1995.
- 孟琳升 等. 中醫治癌大成. 北京科學技術出版社, p 1107, 1995.
- 한상일, 강병기. 痞氣丸이 백혈병과 임파종 환자에서 추출한 암세포에 미치는 항암효과. 대한한방내과학회지 12(2):1-10, 1991.
- 김강산, 강병기. 伏梁丸이 백혈병과 간암 환자에서 추출한 암세포에 미치는 항암효과. 원광한의학. 1(1):153-160, 1991.
- 최호영, 김택, 유지창 등. 수종 한약제가 백혈병 세포에 미치는 영향에 대한 연구. 대한본초학회지. 14(1):37-44, 1999.
- 孫燕, 余桂清. 中西醫結合防治腫瘤. 北京醫科大學中國協和大學聯合出版社. p 15, 1995.
- 이효정, 이은옥, 오세순, 안규석, 박영두, 김성훈. 가미계격탕의 혈관형성 저해작용에 관한 연구. 동의생리병리학회지, 18(4):1056-1060, 2004.
- An oriental herbal cocktail, ka-mi-kae-kyuk-tang, exerts anti-cancer activities by targeting angiogenesis, apoptosis and metastasis. Carcinogenesis. Jun 15, 2006.
- 송미선, 김윤상, 임은미. 건질에 대한 문헌적 고찰. 대한한방부인과회지. 15(1):60-76, 2002.
- 전국한의대 본초학교실: 영림사, p 439, 1991.
- Kim, J.H., Kim, H.P., Jung, C.H., Hong, M.H., Hong, M.C., Bae, H.S., Lee, S.D., Park, S.Y., Park, J.H., Ko, S.G. Inhibition of cell cycle progression via p27Kip1 upregulation and apoptosis induction by an ethanol extract of *Rhus verniciflua* Stokes in AGS gastric cancer cells. Int J Mol Med. 18(1):201-208, 2006.
- Kitts, D.D., Lim, K.T. Antitumorigenic and cytotoxic properties of an ethanol extract derived from *Rhus verniciflua* Stokes (RVS). J Toxicol Environ Health A. 64(4):357-371, 2001.
- Lee, S.J., Oh, P.S., Lim, K., Lim, K.T. 36 kDa glycoprotein isolated from *Rhus verniciflua* stokes inhibits G/G0-induced mitochondrial apoptotic signal pathways in BNL CL.2 cells. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 97(6):399-405, 2005.
- Jeon, W.K., Lee, J.H., Kim, H.K., Lee, A.Y., Lee, S.O., Kim, Y.S., Ryu, S.Y., Kim, S.Y., Lee, Y.J., Ko, B.S. Anti-platelet effects of bioactive compounds isolated from the bark of *Rhus verniciflua* Stokes. J Ethnopharmacol. 106(1):62-69, 2006.
- Oh, P.S., Lee, S.J., Lim, K.T. Hypolipidemic and antioxidative effects of the plant glycoprotein (36 kDa) from *Rhus verniciflua* stokes fruit in triton WR-1339-Induced hyperlipidemic mice. Biosci Biotechnol Biochem. 70(2):447-456, 2006.
- 이승호, 조종관. 활혈화어법을 이용한 암의 전이와 성장 억제에 관한 문헌적 연구. 대전대 한의학연구소 논문집. 7(1):700, 1998.
- Taraboletti, G., Poli, M., Dossi, R., Manenti, L., Borsotti, P., Faircloth, G.T., Broggin, M., D'Incalci, M., Ribatti, D., Giavazzi, R. Antiangiogenic activity of aplidine, a new agent of marine origin. Br J Cancer. 90(12):2418-2424, 2004.