

인간대동맥평활근의 유주능 및 기질금속단백분해효소의 억제를 통한 계지의 항동맥경화능

김재은 · 이창섭 · 최성규 · 최달영*

동국대학교 한의과대학 병리학교실

Anti-sclerotic Effect of *Cinnamomi Ramulus* Via Suppression of MMP-9 Activity and Migration of TNF- α -induced HASMC

Jai Eun Kim, Chang Sup Lee, Sung Kyu Choi, Dall Yeong Choi*

Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Dongguk University

Proliferation of vascular smooth muscle cell(VSMC) is one of the key features in onset of atherosclerosis and restenosis after vascular surgery such as stent implant. Atherosclerotic plaques are usually composed of collagen, elatsin and smooth muscle cells. Release of matrix metalloproteinases(MMPs) is considered to have correlation with development of atherosclerotic plaques. Based on the hypothesis that MMP inhibition would be helpful in the treatment of atherosclerosis, we investigated inhibition of MMP activity and migration of TNF- α -induced human aortic smooth muscle cell(HASMC) by *Cinnamomi Ramulus*(CC). The result from gelatin zymography showed that CC inhibited MMP-9 activity in a dose-dependent manner. In addition, CC considerably inhibited the migration of HASMC induced by TNF- α , while it showed little cytotoxic effect on HASMC. These results suggest that CC can be a potential anti-atherosclerotic agent through inhibition of MMP-9 activity and SMC migraiton.

Key words : *Cinnamomi Ramulus*(CC), HASMC, atherosclerosis, TNF- α , MMP-9, migration

서 론

혈관평활근세포(VSMC)의 증식은 동맥경화증의 발병이나 스텐트 삽입 등의 혈관수술 후 재경색 등 치료 후 실패에 중요한 역할을 한다. 혈관의 병소는 염증성 세포의 축적이나 사이토카인의 방출 등 일련의 병리적 과정을 거쳐 생성된다¹⁾. 이러한 사이토카인 중에 대표적인 것이 종양괴사인자- α (TNF- α)로 동맥경화 병소에 증식한 대식세포로부터 뿐만 아니라 손상된 혈관평활근에서도 분비된다.

증식과 함께 동맥경화의 발생에 중요한 역할을 하는 것이 혈관평활근의 동맥벽 내막으로의 유주 현상이다. 기질금속단백분해효소(MMP), 특히 MMP-2와 MMP-9은 혈관평활근의 유주에 관여하여 실제 혈관병소의 특징인 내막 비후화에 기여하는 것으로 알려져 있다. 대개 조직에 항상 존재하는 MMP-2와는 달리,

MMP-9은 사이토카인 등을 포함한 다양한 자극을 통해 합성과 분비가 활성화되므로, 증가된 MMP-9의 발현은 혈관경화 병소의 진행을 의미한다고 볼 수 있다²⁾. MMP-9은 혈관평활근의 유주와 증식 모두를 제어할 수 있기에, 혈관 병소의 발전에 핵심적인 역할을 한다고 보고되었다. 즉 평소에는 낮은 수준으로 존재하는 MMP-9이 혈관평활근에 TNF- α 를 처리함으로써 발현이 유도되고, 증가된 MMP-9의 단백질 분해 활성에 의해 평활근 세포 주변의 세포외 기질이 분해되어 평활근 세포의 유주를 매개한다. 그 결과 혈관평활근세포가 혈관의 내막으로 유주하여 증식하는 것을 촉진하여 많은 혈관질환을 유발하고 동맥경화를 심화시킨다³⁾. 그 과정에는 다양한 기전이 관여하는 가운데 MAPK의 역할이 조명되고 있다. 따라서 최근 천연자원에서 MMP-9의 발현억제를 통해 혈관질환 억제 혹은 동맥경화 예방 기능이 있는 물질에 대한 관심과 연구가 활발하다.

계지(*Cinnamomi Ramulus*)는 녹나무과에 속한 육계(*Cinnamomum Cassia* PRESL)의 어린 가지를 건조한 것이다. 약성은辛溫하고 心肺膀胱經으로 귀경하여 散寒解表, 溫經通脈, 通

* 교신저자 : 최달영, 경북 경주시 석장동 707, 동국대학교 한의과대학

· E-mail : cdydkom@dongguk.ac.kr, · Tel : 054-770-2367

· 접수 : 2009/08/26 · 수정 : 2009/09/15 · 채택 : 2009/09/30

陽化氣의 효능이 있다. 약리적으로는 진정, 항경련, 진통, 해열 등 중추신경 억제작용이 있으며 기타 모세혈관 확장작용, 거담 진해작용, 이뇨작용, 항알러지 작용, 항균작용, 항바이러스 작용 등이 있다. 또한 관상동맥의 혈류량을 증가시킨다⁴⁾. 계지의 항염증작용과 항암작용, 관절염 치료 효과에 대해서는 여러 연구가 있다. Park 등⁵⁾은 계지가 LPS로 염증을 유도한 생쥐의 대식세포에서 PGE-2, COX-2, NO, iNOS 등 염증단백질의 발현을 억제한다고 보고하였다. 또한 Wu 등⁶⁾은 계지의 주성분인 cinnamaldehyde가 다수의 인간 암세포에 대해서 Bcl-2 및 MAPK 경로를 활성화시켜 apoptosis를 유도한다고 발표하였다.

본 연구에서는 임상에서 널리 쓰이고 있는 계지의 다양한 약리 기전 중에서 항염증작용 및 항유주능에 관심을 두고 TNF- α 로 유도되는 인간대동맥평활근세포를 대상으로 그 기전을 찾아보았으며 그 중 특히 MMP 활성억제를 통한 항동맥경화 약물로서 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

본 실험에 사용한 약재는 대경생약에서 수입하고 동국대학교 한의과대학 병리학교실에서 선별한 것을 정선하여 사용하였다. 건조한 계지 200 g에 100%의 메탄올 1500 ml을 가하여 24시간 동안, 3차에 걸쳐 추출하였다. 추출액은 여과하여 농축하여 동결건조 후 분말을 얻어 실험에 사용하였다 (수율 3.9%). 이 분말을 100%의 메탄올에 녹여 사용하였다. Fig. 1에 대략의 추출방법을 나타내었다.

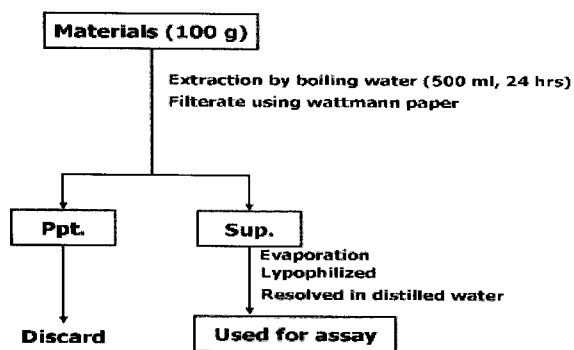


Fig. 1. Preparation of the methanol-extracts of Cinnamomi Ramulus(CC)

2) 시약

세포배양액은 Smooth Muscle Cell Medium (SMCM)와 이에 딸린 SMC growth supplement를 ScienCell사(Sandiego, USA)에서 구입하였다. 실험에 사용된 모든 시약은 분석용 등급 이상으로 사용하였다.

2. 방법

1) 세포배양

인간 동맥 평활근 세포주인 Human Aortic Smooth Muscle Cell(HASMC)은 ScienCell사 (Sandiego, USA)에서 구입하여 본 교실에서 보관하고 있던 것을 SMCM에서 배양하였다. 배양은 37°C, 5% CO₂ 조건에서 이뤄졌다.

2) XTT assay

HASMC에 대한 계지의 세포독성 효과를 알아보기 위해 상용화되어 있는 proliferation kit (XTT II, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)를 사용하였다. 96 well plate에 well 당 1x10⁴ 개의 HASMC를 분주하고 약제를 다양한 농도별 (대조군 0 ug/ml)로 처리하였다. 24시간 배양 후 well 당 50 ul의 XTT solution(sodium 3'-[1-(phenyl-aminocarbonyl)-3,4-tetrazolium]-bis(4-methoxy-6-nitro) benzenesulfonic acid hydrate and N-mehtyl diabenzopyrazine methyl sulfate, 50:1의 비율로 혼합)을 가하였다. 37°C, 5% CO₂ 조건에서 4시간 배양 후 ELISA plate reader(Molecular device Co., CA, USA)로 490 nm에서 흡광도를 측정하여 세포 생존율을 대조군과의 백분율로 나타내었다. 약제 자체의 흡광도를 보정하기 위하여 세포를 제외한 배지만을 함께 배양하여 대조군 및 실험군의 흡광도를 비교 보정한 후에 세포생존율을 백분율로 표시하였다.

3) Migration assay

HASMC의 유주능은 transwell chamber(Corning, NY, USA)를 사용하여 측정하였다. HASMC를 invasion chamber의 upper well에 5x10⁴ cells/200 ul로 seeding 한 후 계지(500 ug/ml)를 처리하였다. lower well에는 conditioned medium을 500 ul을 넣고, chamber를 37°C, 5% CO₂ 조건에서 24시간 배양하였다. 배양 후 filter를 well에서 제거한 후 뒷면은 면봉으로 닦아 세포를 제거한다. 그리고 제조사(Corning)의 방법 안내에 따라 MeOH로 고정하고 hematoxylin & eosin (H&E) 염색한 후 permount solution으로 슬라이드에 고정한다. 광학현미경으로 filter를 통과하여 아랫면에 위치한 세포의 수를 counting 한다.

4) Gelatin zymography assay

MMP-9의 activity를 측정하기 위해 6 well plate에 HASMC를 분주 배양한 후, serum free medium으로 2시간 starvation 시킨 후 각각 다양한 농도의 약제를 2시간 전처리한 후 100 ng/ml의 TNF- α 를 24시간 처리하였다. 각 배양액을 sample buffer에 resuspension 후 100V에서 전기영동을 실시한 후, 0.25% Triton X-100으로 10분씩 3회 세척하고 증류수로 세척한다. 세척한 gel은 incubation buffer(50mM Tris-HCl(pH 7.6), 20 mM NaCl, 5 mM CaCl₂, 0.02% Brij-58)에 넣어 37°C에서 20시간 반응시킨 후 0.1%(w/v) Coomassie blue 용액으로 30분간 염색하여 젤라틴 분해 정도를 확인한 후 Scion Image(Scion Corp., MA, USA)로 zymogram을 얻었다.

5) Western blotting assay

다양한 농도의 약물을 처리한 HASMC를 lysate buffer(20 mM Tris-HCL, 1 mM Na₂EDTA, 150 mM NaCl, 1 mM EFTA, 1% deoxycholate, 2.5 mM sodium pyrophosphate, 1 mM beta-glycerophosphate, 5 mM NaF, 1 mM Na₃VO₄, 1 ug/ml

leupeptin, 1 ug/ml aprotinin, and 1% NP-40)로 처리한다. 13,000rpm으로 15분간 원심분리 후 supernatant를 취한다. Bio-Rad protein assay를 이용하여 단백질 농도를 측정한다. 단백질 aliquots(30 ug/lane)를 10% SDS-PAGE 상에서 전기영동한 후 Hybond-ECL Nitrocellulose membrane (Amersham Bioscience, Buckshire, UK)에 transfer하였다. 특정 항체와 overnight 반응시킨 후, enhanced chemiluminescence로써 단백질을 확인하였다.

6) RT-PCR

TRIZOL Reagent (Invitrogen life Technologies, USA)을 사용하여 total RNA를 추출한 후, RT-PCR 수행을 위해 1 ug의 total RNA와 AccuPower RT Premix Kit (Bioneer, Korea)를 사용하여 cDNA를 합성하였다. 합성한 cDNA는 PCR로 증폭하였으며 이 때 사용한 primers는 MMP-9 (537 bp): 50-CGGAGCACGGAGACGGGTAT-30 (sense) and 50-TGAAGGGGAAGACGCACAGC-30 (antisense); β -actin (247 bp), 50-CAAGAGATGGCCACGGCTGCT-30 (sense) and 50-TCCTTCTGCATCCTGTCCGCA-30 (antisense)이다. PCR 산물은 ethidium bromide로 발색한 agarose gel 전기영동을 통해 분석하였다.

결 과

1. 계지의 HASMC에 대한 독성 (XTT)

인간평활근세포에 대한 세포독성을 알아보기 위하여 계지 추출물을 농도별로 24시간 처리한 후, XTT assay를 실시한 결과 (Fig. 2), 1000 ug/ml의 농도에서 87.5%의 생존율을 보여 약한 세포독성을 나타내었다. 500 ug/ml의 농도에서는 93%의 생존율을 보여, 처리 농도를 500 ug/ml로 정하고 다음 실험을 진행하였다. 또한 계지의 처리시간을 달리하여 XTT assay를 실시하였다. 각각 0시간, 4시간, 8시간, 24시간동안의 계지(500 ug/ml) 처리 후 assay를 진행하여 Fig. 3와 같은 결과를 얻었다. 시간을 달리하여 계지를 처리하여도 24시간까지 세포에 대한 독성은 나타나지 않았다.

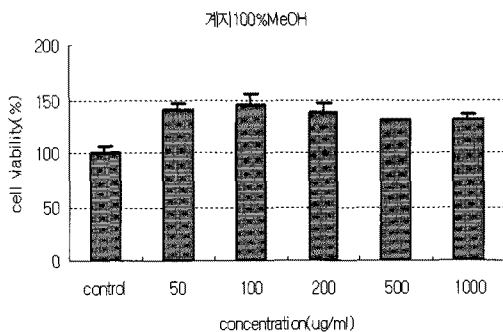


Fig. 2. XTT assay (doses)

2. 계지가 HASMC의 세포유주능에 미치는 영향 (transwell migration)

계지가 TNF- α 처리로 증가하는 HASMC의 유주능력에 미치는

영향을 알아보기 위하여 transwell migration assay를 실행하였다. HASMC에 100 ng/ml의 TNF- α 를 24시간 처리하여 얻은 conditioned medium을 transwell의 lower well에 넣고, 계지를 전처리한 후 TNF- α 를 2시간 동안 처리한 HASMC를 upper well에 넣은 후 24시간 동안 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. upper well의 filter를 HE 염색하여 광화현미경으로 관찰하였다. 결과 TNF- α 를 처리한 세포의 유주는 대조군에 비해 현저히 증가하였으며, 500 ug/ml농도의 계지를 처리한 경우 이렇게 증가된 세포의 유주를 감소시키는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 4).

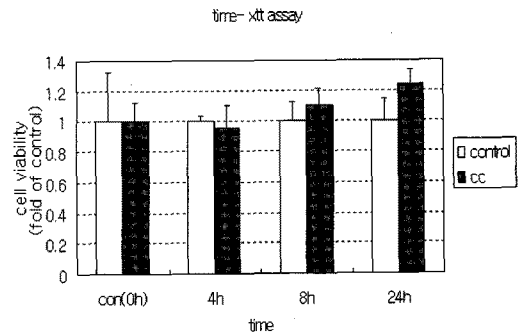


Fig. 3. XTT assay (times)

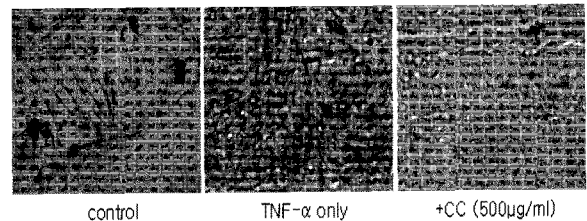


Fig. 4. Migration assay

3. 계지가 MMP-9의 활성화에 미치는 영향 (Zymography, RT-PCR, Western blotting)

HASMC에서 MMP-9은 TNF- α 에 의해 그 활성이 증가하는데, 본 실험에서는 TNF- α 에 의해 유도된 MMP-9을 계지가 효과적으로 감소시키는지 알아보았다. 여러 농도(0, 50, 100, 200, 500 ug/ml)의 계지를 2시간 전처리하고 100 ng/ml의 TNF- α 를 처리하고 24시간 후 세포배양액을 얻어 gelatin zymography를 수행한 바, Fig. 5에서 보듯이 TNF- α 에 의해 유도되는 MMP-9이 계지에 의해 농도의존적으로 감소하는 것으로 나타났다. 또한 결과를 재차 확인하기 위해 세포에서 RNA를 추출하여 RT-PCR을 실행한 결과, Fig. 6와 같이 역시 MMP-9이 계지에 의해 농도의존적으로 감소하는 것이 관찰되었다. 이와 함께, MAPK 중 p-ERK와 p-P38의 활성화에 계지가 미치는 영향도 알아보았다(Fig. 7). 이들 kinases 역시 TNF- α 처리에 의해 활성이 현저히 증가하였다가 계지의 처리에 의해 농도의존적으로 그 활성이 감소하는 것이 확인되었다. 그리고 이미 알려진 MAPkinase inhibitors인 SP600125(SAPK/JNK inhibitor), SB203580(p38 inhibitor), PD98059(ERK1/2 inhibitor)와 비교하여 zymography를 실시하여 Fig. 8과 같은 결과를 얻었다.

고찰

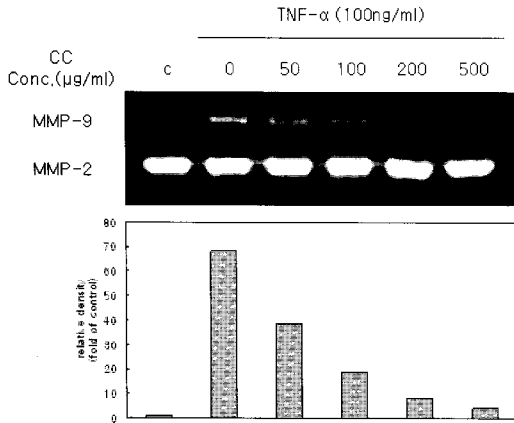


Fig. 5. MMP-9 zymography

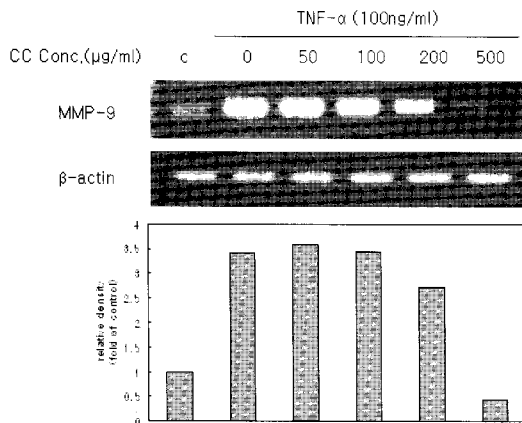


Fig. 6. MMP-9 RT-PCR

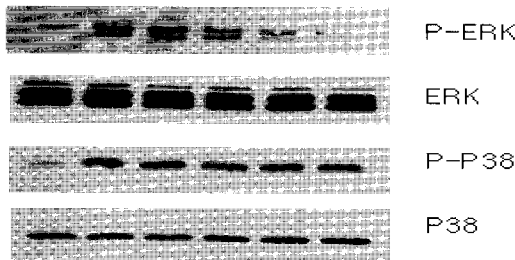


Fig. 7. Western Blotting (P-ERK, P38)

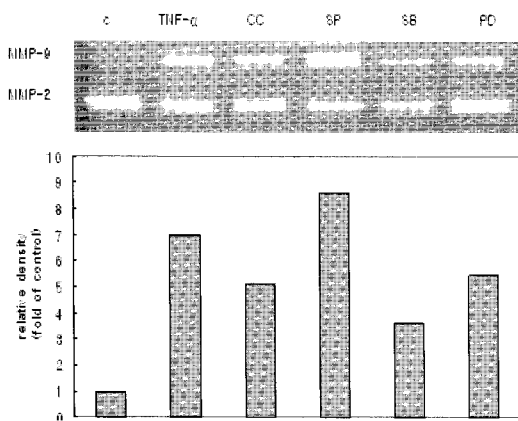


Fig. 8. comparison with MAPkinases inhibitors

허혈성 심장질환의 대부분의 원인으로 간주되는 동맥경화⁷⁾는 혈액역동학적으로 중요한 동맥관재협착의 주된 전구단계로서도 그 의미가 주목받고 있는 한편, 그와는 독립적으로 많은 인구의 유병율과 사망률에 대한 상관관계가 늘어나고 있는 병태이다⁸⁾.

Matrix Metalloproteinase(MMP)는 세포외기질을 분해하는 일군의 효소이며, 생리적인 조건에서는 MMP의 발현수준은 매우 낮다. 발현량의 증가는 동맥경화, 재협착, 류머티스성 관절염, 암 등 다양한 질병으로 이어지는 것으로 알려져 있다. 동맥경화의 경우, MMP의 증가는 동맥경화반의 파열과 연관되어 있고 급성 혈관 질환의 발생에 역할을 한다. MMP의 억제제를 통해 동맥경화반의 크기를 줄이고 불안정화를 예방함으로써 동맥경화 치료에 유용할 것을 시사하는 여러 연구결과도 있다⁹⁾. 최근 천연자원 중에서 혈관재협착 억제 혹은 동맥경화 예방의 효능이 있는 물질에 대한 관심과 연구가 늘어나고, 특히 MMP 억제제의 개발에도 심도 있는 연구가 진행되고 있다. 이러한 연구 중 혈관평활근을 대상으로 한 것은 많지 않으며, 대부분 증식 억제에 초점이 맞춰진 것이 많은 실정이다. Mason 등¹⁰⁾은 MMP-9이 과다 발현되면 rat의 경동맥 손상 재생시 혈관평활근의 유주가 늘어나고 리모델링 과정에 변화가 온다고 보고하였다. 또한 인공합성물질인 batimastat¹¹⁾, statin¹²⁾ 등이 MMP-9의 억제 효과가 있다고 보고되었다. 천연 물질로는 녹차의 주성분인 catechin이 SMC의 유주를 억제하는 것으로 알려져 있다¹³⁾. 이에 본 연구에서는 주요한 약재의 하나인 계지가 사람의 동맥평활근세포인 HASMC의 유주 및 MMPs 활성을 억제할 수 있는지 조사하였다.

계지(*Cinnamomi Ramulus*)는 육계(*Cinnamomum Cassia*)의 어린 가지를 건조한 것으로 性이 溫 無毒하고 味는 辛甘하며 發汗解肌, 溫經通脈, 通陽化氣, 平降喘逆의 효능이 있다¹⁴⁾. 약리적으로는 진정, 항경련, 진통, 해열 등 중추신경 억제작용이 있으며 기타 모세혈관 확장작용, 거담 진해작용, 이뇨작용, 항알러지 작용, 항근작용, 항바이러스 작용 등이 있다. 또한 관상동맥의 혈류량을 증가시킨다⁴⁾. 계지의 항염증작용과 항암작용, 관절염 치료 효과에 대해서는 여러 연구가 있다. Park 등¹⁵⁾은 계지가 LPS로 염증을 유도한 생쥐의 대식세포에서 PGE-2, COX-2, NO, iNOS 등 염증단백질의 발현을 억제한다고 보고하였다. 또한 Wu 등⁶⁾은 계지의 주성분인 cinnamaldehyde가 다수의 인간 암세포에 대해서 Bcl-2 및 MAPK 경로를 활성화시켜 apoptosis를 유도한다고 발표하였다. Jeong 등¹⁶⁾은 cinnamaldehydes가 angiogenesis, cell adhesion, tumor cell growth등에 억제 효과가 있으며 그 중 종양세포의 억제에 관련된 기전은 cell cycle 억제를 통한 apoptosis가 관여하는 것을 밝혀냈고, Lee 등¹⁷⁾은 cinnamaldehyde 유도체가 AP-1 불활성화를 통해 세포의 증식을 억제함으로써 직장암 세포의 성장을 저해함을 보고했다.

본 실험을 통해 계지가 사람의 동맥 평활근세포 HASMC의 유주 및 MMP-9 활성을 억제할 수 있는지 조사하였다. 그 첫 단계로 계지의 HASMC에 대한 세포독성을 알아보았다. 1000 ug/ml의 농도까지 계지를 처리한 바, 500 ug/ml까지는 세포에

유의할 만한 독성을 나타내지 않았다. 따라서 차후 실험에서도 최고 농도를 500 ug/ml로 정하고 진행하였다. 이를 통해 계지가 보인 유주 및 MMP 활성 억제효과가 세포의 생존을 감소가 아니라 약재의 고유한 특성에 의한 것임을 알 수 있다.

계지가 TNF- α 에 의해 증가하는 세포유주능에 주는 영향을 migration assay를 통해 알아보았다. 결과 TNF- α 처리에 의해 세포의 유주가 현저히 증가하는 것을 관찰할 수 있었고, 이렇게 증가한 세포의 유주를 계지가 효과적으로 감소시켰다.

HASMC의 유주와 증식에 역할을 하는 MMP-9의 활성에 미치는 영향을 zymography, RT-PCR, Western blotting을 통해 알아보았다. TNF- α 처리로 증가된 MMP-9이 계지 처리에 의해 농도에 비례하여 유도량이 감소하는 것을 관찰할 수 있었다. MAP kinases인 ERK와 P38에 대해서는 TNF- α 처리로 phosphorylation이 증가했다가 계지 처리에 의해 농도 의존적으로 phosphorylation이 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 특히 p-ERK의 phosphorylation의 감소가 p-P38의 것에 비해 상대적으로 확실하게 드러났다. 이에 착안하여 계지를 처리한 것과, 이들 MAPkinase inhibitor들을 처리한 시료의 MMP-9 분비를 비교한 결과 모두 MMP-9이 감소한 것을 확인할 수 있었다.

이들 결과를 토대로 볼 때, 계지에 의한 HASMC 유주능의 억제는 MMP-9의 활성 저해에 의한 것으로, 또 여기에는 MAP kinases 특히 ERK와 p38의 활성 감소가 관여하는 것으로 추측할 수 있으며, 계지를 동맥경화 치료제 및 예방물질로서 사용하는 가능성을 예상할 수 있다.

결 론

본 연구를 통해 TNF- α 로 유도된 인간 동맥 평활근세포 HASMC를 대상으로 계지 메탄올 추출물에 의한 MMP-9의 활성화 억제 및 MAPkinases ERK와 p38의 phosphorylation을 저해하는 것을 확인하였다. 자이모그래피 결과 계지는 농도 의존적으로 MMP-9 활성을 억제하였으며, HASMC의 유주능을 억제하였다. 반면 세포 독성은 높지 않았다. 이들 결과는 계지는 MMP-9 활성화와 혈관평활근 유주 억제를 통해 항동맥경화 치료제 및 예방물질로서 가능성이 있음을 알 수 있다.

현재 합성 MMP 억제제들은 그다지 specific하지 않고 임상 결과도 결정적이지가 않다. 선택적인 억제제의 개발과 국소적인 gene transfer의 개발이 동맥경화의 치료에 보다 적합할 지도 모른다는 의문이 제기되고 있다. 이러한 합성억제제들보다는 천연 물질 중에서 MMP 억제 효과가 있는 것들을 연구하여 동맥경화 등 심혈관계 질환에 응용하는 것이 더 유용할 것으로 사료된다.

참고문헌

- Ross, R. The Pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 362: 801-809, 1993.
- Newby, A.C., Zaltsman, A.B. Molecular mechanisms in intimal hyperplasia. *J. Pathol.* 190: 300-309, 2001.
- Cho, A., Reidy, M.A. Matrix metalloproteinase-9 is necessary for the regulation of smooth muscle cell replication and migration after arterial injury. *Circ Res.* 91: 845-851, 2002.
- 김호철. 한약약리학. 서울, 집문당, pp 66-67, 2001.
- Park, H.J., Lee, J.S., Lee, J.D., et al. The anti-inflammatory effect of Cinnamomi Ramulus. *J. Kor Orient Med* 26: 140-151, 2005.
- Wu, S.J., Ng, L.T., Lin, C.C. Cinnamaldehyde-induced apoptosis in human PLC/PRF/5 cells through activation of the proapoptotic Bcl-2 family proteins and MAPK pathway *Life Sciences* 77: 938-951, 2005.
- 대한병리학회, 병리학 (제5판). 서울, 고문사, pp 324-325, 2003.
- Ngo, D.T., Sverdlov, A.L., Willoughby, S.R., Nightingale, A.K., Chirkov, Y.Y., McNeil, J.J., Horowitz, J.D. Determinants of occurrence of aortic sclerosis in an aging population. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2(8):919-927, 2009.
- Rouis, M. Matrix metalloproteinase : a potential therapeutic target in atherosclerosis, *Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Discord.* 5(6):541-548, 2005.
- Mason, D.P., Kenagy, R.D., Hasenstab, D., Bowen-Pope, D.F., Seifert, R.A., Coats, S., Hawkings, S.M., Clowes, A.W. Matrix metalloproteinase-9 overexpression enhances vascular smooth muscle cell migration and alters remodeling in the injured rat carotid artery. *Circ Res.* 85(12):1179-1185, 1999.
- Lovdhal, C., Thyberg, J., Hultgardh Nilsson, A. The syntehtic metalloproteinase inhibitor batimastat suppresses injury-induced phosphorylation of MAPKinase ERK1/2 and phenotypic modification of arterial smooth muscle cells in vitro. *J Vasc Res.* 37(5):345-354, 2000.
- Porter, K.E., Turner, N.A. Statins for the prevention of vein graft stenosis: a role for inhibitor of matrix metalloproteinase-9. *Biochem Soc Trans.* 30(2):120-126, 2002.
- Maeda, K., Kuzuya, M., Cheng, X.W., Asai, T., Kanda, S., Tamaya-Mori, N., Sasaki, T., Shibata, T., Iguchi, A. Green tea catechins inhibit the cultured smooth muscle cell invasion through the basement barrier. *Atherosclerosis.* 166(1):23-30, 2003.
- 전국한의과대학공통교과편찬위원회. 본초학. 서울, 영림사, pp 156-157, 2004.
- Park, H.J., Lee, J.S., Lee, J.D., et al. The anti-inflammatory effect of Cinnamomi Ramulus. *J. Kor Orient Med* 26: 140-151, 2005.
- Jeong, H.W., Han, D.C., Son, K.H., Han, M.Y., Lim, J.S., Ha, J.H., Lee, C.W., Kim, H.M., Kim, H.C., Kwon, B.M. Antitumor effect of the cinnamaldehyde derivative CB403 through the arrest of cell cycle progression in the G2/M

- phase. *Biochemical pharmacology* 65(8):1343-1350, 2003.
17. Lee, W.C., Lee, H.S., Lee, W.J., Ban, O.J., Lee, Y.S., Yoo, S.H., Jung, K.J., Moon, C.D., Oh, W.K., Hong, T.J. 2-Hydroxycinnamaldehyde inhibits SW620 Colon Cancer Cell growth through AP-1 inactivation. *Journal of pharmacological sciences* 104(1):19-28, 2007.