

## 한국 전통 약주의 B16BL6 mouse melanoma 및 HRT18 human colon adenocarcinoma 세포 성장 억제 효과

정건섭\* · 오원택\*\* · 남상민 · 손병수 · 박용석  
연세대학교 임상병리과, \*생물자원공학과, \*\*한국식품위생연구원

### Effect of Korean Rice-Wine (*Yakju*) on *in vitro* and *in vivo* Progression of B16BL6 Mouse Melanoma and HRT18 Human Colon Adenocarcinoma Cells

Kun-Sub Chung\*, Won-Taek Oh\*\*, Sang-Min Nam,  
Byoung-Soo Son and Yong-Serk Park

Department of Medical Technology, \*Department of Biological Resources and Technology,  
Yonsei University, \*\*Korea Institute of Food Hygiene

#### Abstract

Two kinds of Korean rice-wine (*Yakju*) with different process and ingredients, and Japanese rice-wine (*Sake*) were chosen for this study, and throughly dried and solubilized in water or cell culture medium. *In vitro* cytotoxicity assays of the solubilized wine solids exhibited that maximum dilution factors for inhibition of B16BL6 mouse melanoma cell growth were 16X for herbal medicine-added rice-wine (Korean rice-wine I) and typical Korean rice-wine (Korean rice-wine II), and 8X for Japanese rice-wine. Their cytotoxic effects on HRT18 human colon adenocarcinoma cells were even lower than those on B16BL6 cells. The morphology of the tumor cells were changed by addition of the solubilized wine solids. Inhibitory effect of the rice-wine on *in vivo* tumor growth and metastasis were monitored after implantation of B16BL6 cells into C57BL/6 mice with daily feeding the solubilized wine solids. Compared to non-fed control groups, B16BL6 tumor growth and metastasis to lung were clearly inhibited by feeding the wine solids, in order of Korean rice-wine I > Korean rice-wine II > Japanese rice-wine. The data of *in vitro* cytotoxicity and the cell shape changes indicate that the inhibitory effect of tumor progression may be attributed to tumor cell differentiation or immune stimulation induced by certain components in the rice-wine, rather than direct cytotoxicity of the components.

Key words: rice wine, *yakju*, *sake*, cancer, cytotoxicity

## 서 론

일반적으로 섭취하는 다양한 발효식품에는 건강에 유익한 성분들이 존재하는 것으로 알려져 있다. 그 중에서 한국의 대표적인 발효식품으로는 장류, 김치류, 전통주 등을 들 수 있으며, 최근에 장류<sup>(1-3)</sup>와 김치류<sup>(4,5)</sup>의 생리활성에 대한 연구 보고가 발표되고 있다.

한국의 전통 발효식품 뿐만 아니라 서구에서도 발효식품인 적포도주를 적절하게 음용할 경우에 여러 가지 질환의 발생을 감소시킬 수 있다는 연구보고가 계속되고 있다. 예를 들어 적포도주의 제한된 음용이

심장질환<sup>(6,7)</sup>, 동맥경화<sup>(8)</sup>, 암유발 억제<sup>(9,10)</sup> 등에 효과가 있는 것으로 보고되고 있다. 적포도주에는 다양한 flavonoid, phenolic acid 등을 포함한 여러 가지 polyphenol이 존재하고 이들이 건강에 유익하게 작용하는 것으로 알려져 있다<sup>(11)</sup>. 이들 성분은 발효과정에서 만들어지거나, 또는 발효되기 전 이미 재료에 그러한 물질이 포함되어 있어 다른 발효 물질과 더불어 상승작용을 일으키는 것일 수도 있다. 어느 경우라 하더라도 발효과정이 갖는 의미는 적지 않다. 그러나 지금까지 구체적으로 어떠한 조성이 어떻게 건강에 관여하고 있는 지에 대한 연구는 극히 초보적인 단계이다. 포도주 외의 다양한 발효식품의 건강 또는 질병과의 유의성에 대한 연구도 활발하다. 일례로 콩으로 만

Corresponding author: Yong-Serk Park, Department of Medical Technology, Yonsei University, Wonju 220-710, Korea

든 발효식품에서 암유발을 억제하거나 예방할 수 있는 물질이 발견되었고<sup>(12,13)</sup> 또한 발효유 제품에서도 직장암 등을 억제할 수 있다는 보고가 발표되어 있다<sup>(14,15)</sup>.

이러한 관점에서 한국의 전통약주에 대해서도 건강과 관련하여 많은 추측과 예단이 있어 왔다. 특히 특정한 한약재를 주원료로 하여 발효된 경우에는 여러 가지 질병에 효과가 있는 것으로 여겨 민간요법으로 이용되기도 한다. 그러나 이러한 전통약주와 건강 또는 질병과 관련된 여러 가지 속설에 대한 과학적인 분석은 부족한 상태이다. 따라서 보다 체계적이고 과학적으로 접근하여 한국 전통주의 약리적 효과와 그 작용기전을 밝히는 일이 중요하다. 과학적인 접근을 통해 일반인들에게 정확한 정보를 제공함으로써 전통주와 관련된 그릇된 인식을 불식시키므로 바람직한 음주문화를 세울 수 있을 것이다.

본 연구에서는 한국의 전통적인 발효 방법의 하나인 무증자 발효를 통해 제조된 전통약주와 여기에 한약재가 첨가된 한방 전통약주가 암세포의 성장과 전이에 어떠한 영향을 미치는 지에 대해 거시적으로나마 밝히고자 실험하여 그 결과를 보고하고자 한다.

## 실험 방법

### 시료 준비

한국 전통약주는 무증자 방법으로 한약재를 첨가하여 발효한 것(전통약주I)과 한약재를 첨가하지 않고 발효한 것(전통약주II)의 2종류 시료((주)국순당 제품)와, 비교 시료로써 일본 전통주인 증자 방법으로 발효한 청주(秋田酒造(株) 제품)를 사용하였다. 전통약주I에 첨가된 한약재는 인삼, 오미자, 구기자, 갈근, 건장, 육계, 백하수오, 복령, 감초, 황기 등 10가지 이었다. 각 시료 술을 동결건조 하여 알코올성분과 수분을 완전 제거한 다음 증류수로 원래의 부피만큼 재용해시키고 0.45  $\mu\text{m}$  무균필터로 여과하여 4°C에서 보관하며 사용하였다.

### 세포배양

B16BL6 mouse melanoma 세포(미국 Texas 대학 Anderson Cancer Center의 Fidler 박사 공여)는 fetal calf serum (FCS)이 5% 첨가된 MEM에서 또한 HRT18 human colon adenocarcinoma 세포(미국 Washington 대학의 Hakomori 박사 공여)는 FCS이 5% 첨가된 DMEM에서 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건으로 세포배양기에서 배양하였다.

### 세포독성 측정

B16BL6 세포와 HRT18 세포를 96 well plate에 넣고(각 well당  $4 \times 10^5$ ) 약 4시간동안 배양하였다. 여기에 증류수로 재용해한 시료를 순차적으로 희석하여 각 well에 첨가하고 24시간 동안 계속 배양한 후 MTT 방법<sup>(16)</sup>으로 각 well에 있는 세포활성을 상대적으로 비교하였다. 즉 각 well에 MTT 용액을 20  $\mu\text{L}$  첨가하여 4시간 동안 추가 배양하고 2,000 rpm에서 원심분리하여 상층액을 제거한 후 여기에 150  $\mu\text{L}$  DMSO를 넣고 30분간 교반하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 체내(*in vivo*) 암세포 성장 및 전이

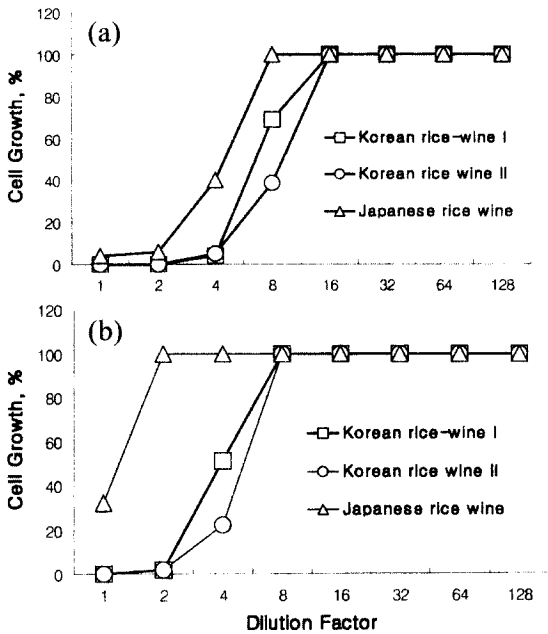
전통약주의 체내에서 암세포 성장과 전이에 미치는 영향을 분석하기 위해 B16BL6 mouse melanoma 세포를 C57BL/6 마우스에 접종하여 대조군과 비교하였다<sup>(17)</sup>. 전통약주I, 전통약주II, 일본 청주의 고형물을 동결건조 전의 원래 부피로 증류수로 재용해하여 조제된 시료를 8주령 C57BL/6 마우스에 암세포를 접종하기 10일 전부터 매일 0.2 mL씩 주입기를 통해 투여하였다. 이후 B16BL6 세포( $2 \times 10^5/50 \mu\text{L}$ )를 마우스의 발바닥에 피하접종 하였다. 이후에도 매일 0.2 mL씩 시료를 주입기를 통해 투여하고 암조직의 크기를 이틀에 한 번 측정하였다. 암세포 접종 21일 후 avertin (Aldrich, U.S.A.)으로 마우스를 마취하여 발바닥의 암세포를 제거 수술을 하였으며, 암세포 접종 35일 째에 마우스를 마취시키고 허파를 꺼내 전이된 B16BL6 melanoma의 colony 수를 확인하였다.

## 결과 및 고찰

### 세포독성 측정

한국 전통약주와 일본 청주에 함유되어있는 성분들의 암세포주에 대한 세포독성을 측정하기 위하여, 증류수에 재용해된 각 시료 술의 고형성분을 B16BL6 세포와 HRT18 세포 배양액에 다양한 희석배수로 첨가하고 암세포 성장을 MTT방법으로 비교하였다.

MTT방법에 의해 측정된 흡광도는 각 well에 있는 세포수와 비례하므로 시료를 넣지 않은 대조군과의 상대적인 세포성장 정도 비교를 통해 3종류 술 성분들의 암세포에 대한 직접적인 독성을 확인하고자 하였다(Fig. 1). B16BL6 mouse melanoma 세포의 경우에 약 16배 미만의 희석배수에서 한국 전통약주I과 전통약주II가 세포독성을 보였으며, 일본 청주의 경우는 약 8배 미만의 희석배수에서부터 암세포주에 대한 세



**Fig. 1.** *In vitro* cytotoxicity of rice-wine solids to tumor cells. The solubilized solids of Korean rice-wine I, Korean rice-wine II, or Japanese rice-wine were added with serial dilution to B16BL6 mouse melanoma cells(A) and HRT18 human colon adenocarcinoma cells(B) in 96 well plates. The cell viability were measured by MTT assay and compared to that in non-treated wells.

포독성을 보였다(Fig. 1A). HRT18 human colon adenocarcinoma 세포의 경우에는 8배 미만 희석배수에서 2종류의 한국 전통약주가 세포독성을 나타낸 반면, 일본 청주는 세포독성이 이보다는 미약하였다(Fig. 1B). 실질적으로 고형성분의 절대량을 고려할 때 원액의 8배 또는 16배 희석배수에서의 세포독성이 큰 의미를 갖는다고는 할 수 없다. 실험결과에서 보듯이 세포주에 따른 민감도가 다양하여 HRT18 세포의 경우는 시료에 대한 저항력이 B16BL6 세포의 경우보다 크다. 이러한 경향은 다른 종류의 항암제의 세포독성 실험에서도 나타난다<sup>(18)</sup>.

각 시료에 대한 세포독성 반응과 달리 외형적인 세포 모습의 변화를 뚜렷이 관찰할 수 있었다. 한국 전통약주I, 전통약주II 그리고 일본 청주를 첨가한 경우 원래의 B16BL6 세포와 HRT18 세포와는 달리 보다 더 plate에 밀착해서 자라고 또한 원래 장방형(B16BL6) 혹은 원형(HRT18)모양에서 긴 fibrous 세포모양으로 변환됨을 볼 수 있었다(Fig. 2). 이러한 현상은 전통약주I이 전통약주II나 일본 청주에 비해 비교적 낮은 희석배수에서도 관찰할 수 있었다. 전통약주I의 경우

는 약 1024배의 희석배수까지 B16BL6 세포와 HRT18 세포의 형태 변화를 보이고, 전통약주II와 일본 청주는 약 256배 희석배수까지 형태를 변화시키지 않았다.

#### 체내(*in vivo*) 암세포 성장 및 전이

전통약주의 고형성분이 체내에서 암세포 성장과 전이에 미치는 영향을 알아보기 위하여 인위적으로 마우스에 암세포를 접종하고 전통약주I, 전통약주II, 일본 청주의 동결건조물을 원래 부피의 증류수로 재용해하여 조제된 시료를 섭취시켰다. 암세포 접종 10일 전부터 매일 섭취시키고 B16BL6 세포를 마우스의 발바닥에 피하접종 한 후 경시적으로 암조직의 크기를 측정하였다. 그 결과는 암세포 접종 약 11일 후까지 암조직 크기의 뚜렷한 차이를 보이지 않다가 19일 이후부터 분명한 차이를 나타내었다(Fig. 3A). 전통약주I과 전통약주II를 섭취시킨 집단이 대조군에 비해 암세포 성장속도가 비교적 늦었으며, 이중에서도 전통약주I을 섭취시킨 집단이 가장 암세포 성장속도가 느렸다. 반면에 일본 청주를 섭취시킨 집단은 대조군과 비슷한 정도로 암세포가 성장하여 거의 암세포 성장 억제 효과가 없었다.

암세포 전이에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 암세포 접종 21일 후에 암세포를 제거하고 암세포 접종 35일 후에 마우스 허파에서 melanoma의 colony 수를 확인하였다. 실험 집단 중에서 전통약주I을 섭취시킨 집단에서 평균 약 3개의 colony로 가장 적은 수가 확인되었다(Fig. 3B, Fig. 4). 반면에 전통약주II와 일본 청주를 섭취시킨 집단에서는 대조군에 비해 비교적 적은 수의 colony가 확인되었으나, 개체간 비교적 큰 편차를 보여 그 차이에 대한 신뢰가 크지 않았다. 이상의 실험결과에 따르면 한국 전통약주가 체내에서 암세포 성장과 전이 억제에 어느 정도 영향을 주고 있음을 알 수 있다.

한국 전통약주 성분이 체내에서 암세포의 성장을 억제하는 경향을 보인 반면에 실제 세포독성은 알려져 있는 다른 여러 항암물질들에 비해 상당히 낮은 편이다. 기존의 일본 청주에 관련된 연구에 의하면 암세포에 따라 64배 이상의 희석배수에서 세포독성을 보였다는 보고가 있다<sup>(19)</sup>. 그러나 본 연구결과에서는 16배미만의 희석배수에서 세포독성을 보여 정상세포와 암세포에 직접적으로 독성을 나타내지 않는다고 판단된다. 따라서 체내에서 전통약주의 어떤 성분이 갖는 항암활성이 직접적으로 암세포 성장을 억제하고 있다기보다는 간접적으로 암세포의 성장에 관여하는

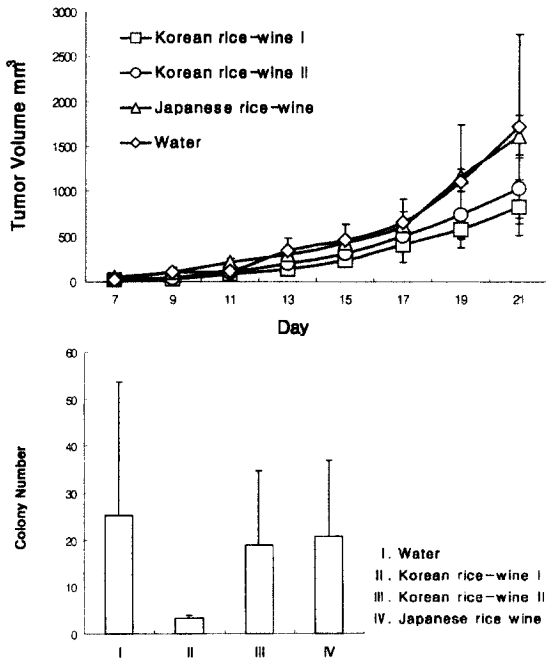
**Fig. 2. Morphological changes of tumor cells induced by rice-wine solids.** B16BL6 mouse melanoma cells and HRT18 human colon adenocarcinoma cells were treated with Korean rice-wine I solids (128-fold dilution). A, B16BL6 non-treated; B, B16BL6 treated; C, HRT18 non-treated; D, HRT18 treated.

것으로 판단된다. 실제 소량의 전통약주 고형성분이 B16BL6세포와 HRT18 세포의 형태를 변환시키는 것으로 보아서(Fig. 2) 주변 여러 가지 면역세포들을 포함하여 다양한 세포에 자극을 주어 암세포 주변환경에 항암활성을 가지도록 할 수 있을 것이다.

한편으로 전통약주I이 전통약주II보다는 항전이 효과가 뚜렷하였다. 전통약주I의 항전이 효과는 특정 고형성분에서 오는 차이와 함께 앞서 언급한 세포형태(또는 형질) 변화에 기인할 수 있다. 실제 전통약주I과 전통약주II의 차이는 한약재의 첨가여부에만 있고 발효과정은 동일하다. 따라서 전통약주I이 갖는 독특한 성질은 한방물질에서 유래한다고 설명하는 것이 타당하다. 또한 한편으로는 일본 청주와 전통약주II도 전통약주I과 같이 세포형태를 변화시키는 성분을 함유

하고 있다. 따라서 항암활성을 제공하는 전통약주I의 독특한 성분과 발효과정에서 생성되는 각 시료에 공통적으로 함유된 어떤 성분이 세포의 이동에 관여하고 있다고 판단된다. 이 두 가지 과정이 동시에 작용하여 전통약주I에서 보다 현격한 상승작용을 유도해 낸 것으로 사료된다.

암세포 전이는 매우 복잡다단한 단계이다. 1차 중앙 조직에서 단세포 형태로 분리되어(detachment) 이동하고(migration) basement와 endothelial 세포를 뚫고 순환계로 빠져 나오는 과정(intravasation)이 필요하고 다시 다른 조직이나 기관으로 이동하는 과정(extravasation)이 수반된다<sup>(20)</sup>. 이러한 전체적인 암전이 과정에서 가장 중요한 것은 세포표면에 발현되는 세포유착물질(cell adhesion molecule)이다<sup>(21)</sup>. 암세포가 intravasation



**Fig. 3. Inhibitory effects of rice-wine on in vivo growth of B16BL6 mouse melanoma cells.** Tumor cells were inoculated into foot pad of the mouse that were daily fed with solutions of rice-wine solids. Tumor growth was monitored to day 21 post tumor inoculation and lung colonization was measured on day 35.

**Fig. 4. Lung colonization of B16BL6 cells.** Mice carrying B16BL6 cells were daily fed with water (A), Korean rice-wine I (B), Korean rice-wine II (C), or Japanese rice-wine (D). The photographs were taken on day 35 post tumor inoculation.

과 extravasation을 통해 전이되기 위해서는 세포 표면에 특정한 세포유착물질의 발현이 필수적이다. 경우에 따라서는 어떠한 세포유착물질의 발현은 감소해야 한다. 소량의 전통약주 성분의 첨가가 세포의 외형을 뚜렷하게 변화시킨다는 것은 세포표면에 발현되는 세포유착물질을 포함한 여러 가지 세포막 단백질의 발현유형에 변화를 줄 수 있다는 의미를 갖는다. 이런 관점에서 낮은 희석배수에서도 세포 형태를 변화시킬 수 있는 전통약주I이 암세포 형태 또는 형질 전환에 더욱 효과적이고, 그러므로 해서 현저한 항전이 효과를 가질 수 있을 것으로 추론된다.

이러한 전통약주가 갖는 약리적인 효과를 분명하게 입증하기 위해서는 보다 체계적이고 광범위한 실험을 통한 구체적인 자료를 필요로 한다. 계속되는 연구를 통해 우선 한국 전통약주의 성분들을 분획하여 앞서 언급한 세포 형태를 변화시킬 수 있는 성분과 항암 또는 항전이 효과가 있는 성분을 분석하여야 할 것이다. 동시에 그러한 성분이 암세포 내부에서 어떤 기전을 통해 어떠한 변화를 유도하는지를 밝혀야 할 것이다. 또한 그러한 성분의 체내 면역기전에서의 역할에 대

한 연구도 필요하다. 본 연구는 이러한 연구과제들의 타당성을 부여하는데 중요한 자료를 제공하고 있다.

**요 약**

한국 전통약주의 암세포주에 대한 세포독성과 체내에서의 암세포 성장 및 전이에 대한 영향을 조사하기 위하여 무증자 발효 방법으로 발효시킨 전형적인 약주(전통약주II)와 이 약주에 한약재를 첨가하여 발효한 것(전통약주I), 비교 시료로 일본 청주에 대하여 연구하였다. 각 시료를 동결건조하고 증류수로 재용해하여 실험에 사용하였는데 암세포주에 대한 세포독성 실험 결과 B16BL6 mouse melanoma 세포에 대하여 전통약주는 2종류 모두 본래 농도의 16배 미만의 희석배수에서 세포독성을 나타냈으며, 일본 청주는 8배 미만의 희석배수에서 나타났다. HRT18 human colon adenocarcinoma 세포에 대한 독성은 비교적 B16BL6 세포의 경우 보다 모두 낮았다. 일상적인 음용 범위 내에서 모든 시료들의 세포에 대한 직접적인 독성은 미약하였으나, 낮은 희석배수에서도 대상 세포들의

형태가 변화하는 것을 관찰할 수 있었다. 각 시료들의 항암효과를 조사하기 위하여, B16BL6 세포를 이용하여 체내에서의 암세포 성장 및 전이를 분석하였다. 암세포를 마우스의 발바닥에 피하접종하고 시료를 섭취시켜 암세포의 성장과 전이를 조사한 결과 일본 청주에 비교하여 전통약주I과 전통약주II 섭취 군에서 높은 암세포 성장을 억제하는 경향을 나타냈으며, 특히 전통약주I은 암의 전이 억제에 뚜렷한 효과를 보였다. 본 연구의 결과에 의하면 이러한 항암효과는 전통약주의 어떤 성분이 직접적으로 암세포에 작용하기보다는 면역세포 등을 포함한 여러 다른 세포의 성장과 분화에 작용하여 간접적으로 항암효과를 나타내는 것으로 판단되었다.

### 감사의 글

본 연구의 일부는 연세대학교 매지학술연구비(1997년, 1998년) 지원으로 수행되었습니다.

### 문헌

- Park, K.Y., Moon, S.H., Baik, H.S. and Cheigh, H.S.: Antimutagenic effect of *Doenjang* toward aflatoxin (in Korean). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **19**, 156-162 (1990)
- Hong, S.S., Chung, K.S., Yoon, K.D. and Cho, Y.J.: Antimutagenic effect of solvent extracts of Korean fermented soybean products. *Foods and Biotechnol.*, **5**, 263-267 (1996)
- Yoon, K.D., Kwon, D.J., Hong, S.S., Kim, S.I. and Chung, K.S.: Inhibitory effects of soybean and fermented soybean products on the chemically induced mutagenesis (in Korean). *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **24**, 525-528 (1996)
- Park, K.Y., Baek, K.S., Rhee, S.H. and Cheigh, H.S.: Antimutagenic effect of *Kimchi*. *Foods and Biotechnol.*, **4**, 169-172 (1996)
- Choi, M.W., Kim, K.H. and Park, K.Y.: Effect of *Kimchi* extracts on the growth of sarcoma 180 cells and phagocytic activity of mice (in Korean). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **26**, 254-260 (1997)
- Miyagi, Y., Miwa, K. and Inoue, H.: Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation by flavonoids in red wine and grape juice. *Am. J. Cardiol.*, **80**, 1627-1631 (1997)
- Pace Asciak, C.R., Hahn, S., Diamonds, E.P., Soleas, G. and Goldberg, D.M.: The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: implications for protection against coronary heart disease. *Clin Chim Acta*, **235**, 207-219 (1995)
- Hayek, T., Fuhrman, B., Vaya, J., Rosenblat, M., Belinky, P., Coleman, R., Elis, A. and Aviram, M.: Reduced progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice following consumption of red wine, or its polyphenols quercetin or catechin, is associated with reduced susceptibility of LDL to oxidation and aggregation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **17**, 2744-2752 (1997)
- Clifford, A.J., Ebeler, S., Ebeler, J.D., Bills, N.D., Hinrichs, S.H., Teissedre, P.L. and Waterhouse, A.L.: Delayed tumor onset in transgenic mice fed an amino acid-based diet supplemented with red wine solids. *Am. J. Clin. Nutr.*, **64**, 748-756 (1996)
- Stoewsand, G.S., Anderson, J.L. and Munson, L.: Inhibition by wine of tumorigenesis induced by ethyl carbamate (urethane) in mice. *Food Chem. Toxicol.*, **29**, 291-295 (1991)
- Soleas, G.J., Diamandis, E.P. and Goldberg, D.M.: Wine as a biological fluid: history, production, and role in disease prevention. *J. Clin. Lab. Anal.*, **11**, 287-313 (1997)
- Kataoka, S., Liu, W., Albright, K., Storkson, J. and Pariza, M.: Inhibition of benzo[a]pyrene-induced mouse forestomach neoplasia and reduction of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration in human polymorphonuclear leucocytes by favour components of Japanese-style fermented soy sauce. *Food Chem. Toxicol.*, **35**, 449-457 (1997)
- Fukutake, M., Takahashi, M., Ishida, K., Kawamura, H., Sugimura, T. and Wakabayashi, K.: Quantification of genistein and genistin in soybeans and soybean products. *Food Chem. Toxicol.*, **34**, 457-461 (1996)
- Kampman, E., Goldbohm, R.A., van den Brandt, P.A. and vant Veer, P.: Fermented dairy products, calcium, and colorectal cancer in The Netherlands Cohort Study. *Cancer Res.*, **54**, 3186-3190 (1994)
- Bakalinsky, A.T., Nadathur, S.R., Carney, J.R. and Gould, S.J.: Antimutagenicity of yogurt. *Mutat. Res.*, **350**, 199-200 (1996)
- Carmichael, J., Defraff, W.G., Gazdar, A.F., Minna, J.D. and Michell, J.G.: Evaluation of a tetrazolium based semiautomated colorimetric assay, assessment of chemisensitivity testing. *Cancer Res.*, **47**, 936-942 (1987)
- Park, Y.S., Hakomori, S., Kawa, S., Ruan, F. and Igarashi, Y.: Liposomal N,N,N-trimethylsphingosine (TMS) as an inhibitor of B16 melanoma cell growth and metastasis with reduced toxicity and enhanced drug efficacy compared to free TMS: cell membrane signaling as a target in cancer therapy III. *Cancer Res.*, **54**, 2213-2217 (1994)
- Nam, S.M., Hakomori, S. and Park, Y.S.: Sterically stabilized anti-GM3, anti-Lex immunoliposomes: Targeting to B16BL6, HRT-18 cancer cells. in press.
- Takizawa, Y., Itou, R., Yoshida, Y. and Kudou, K.: Effect of Sake extracts on the growth of bacteria and human cell lines (in Japanese). *Yuhobika*, **58**, 437-440 (1994)
- Vile, E.G.: Cancer metastasis: from mechanisms to therapies. Wiley, England, p. 21-70 (1995)
- Hakomori, S.: Tumor malignancy defined by aberrant glycosylation and sphingo(glyco)lipid metabolism. *Cancer Res.*, **56**, 5309-5318 (1996)