

인체 암세포에 대한 당근 추출 성분의 세포독성효과

한은주 · 노승배* · 배송자†

신라대학교 식품영양학과

*양산대학 식품가공과

Cytotoxicity of *Daucus carota* L. on Various Cancer Cells

Eun-Joo Han, Sung-Bae Roh* and Song-Ja Bae†

Dept. of Food and Nutrition, Silla University, Pusan 617-736. Korea

†Dept. of Food Science and Technology, Yangsan College, Yangsan 626-800. Korea

Abstract

We investigated the cytotoxic effects of roots and seeds *Daucus carota* L. on HepG2, HeLa, MCF7, SW626, C6 and NB41A3 cell lines by the MTT assay. Among extracts, the ethylacetate partition layer (DCMEA) of root of *Daucus carota* L. showed the strongest cytotoxic effects on HepG2, HeLa, C6 and NB41A3 cell lines. On the other hand, methanol(DCM), n-ethylacetate(DCMEA) and n-butanol(DCMB) extract of the seeds of *Daucus carota* L. also showed significant cytotoxic activities for all six cell lines. β -carotene, a well-known main component of *Daucus carota* L. was also tested for its cytotoxic effect. However, in all six cell lines, β -carotene failed to show significant cytotoxicity. Therefore, the anticancer effect of DCMEA of root of *Daucus carota* L. and DCM, DCMH, DCMEA and DCMB extracts of seeds may be caused by components other than β -carotene. Further studies are under way to isolate the compounds responsible for the significant cytotoxic activity.

Key words: cytotoxicity, *Daucus carota* L., cancer cells

서론

질병에 의한 사망 중에서 암은 심장 질환 다음으로 높은 사망률을 나타내며 이와 같은 추세는 이천년대 까지 지속될 것으로 전망된다(1). 현재까지의 통계에 의하면 전세계적으로 연간 800만명 이상이 암 환자로 진단 받고 있으며, 그 중 약 50%이상은 사망하는 것으로 보고되어 있다(2). 이와 같은 치명적 요인인 암 발생은 대부분 환경과 유전적 인자에 의해 일어난다고 보고되어 있으며(3) 세부적으로는 평소의 식습관과 매우 연관성이 있다고 보고되어 있다(4). 암을 퇴치하기 위한 인류의 노력은 다방면에 걸쳐 계속되고 있으나 아직까지 완전히 암을 퇴치할 수 있는 이상적인 방법은 제시되지 않아 안타까운 실정이다. 한편 근래에는 우리들의 주변에서 흔히 접할 수 있는 천연물과 항상 상용되는 식품들로부터 새로운 계열의 화합물인 선도화합물(lead compound)을 찾고 그 생리활성을 규명하는 연구가 중점적으로 진행되고 있다. Ham 등(5)은 민간약으로 이용되는 더위지기 추출물의 항돌연변이성과 세포독성효과에 대해 연구하였으며, 한방에서는 강장 및 진경제로, 민간약으로는 혈압 및 중풍에 이용

되어 온 개오가피 성분의 항암성 실험을 Yook 등(6)이 행한 바 있다 Hwang 등(7)은 주목 에탄올 추출물들의 항암 효과를 간암세포(HepG2)에서 조사한 결과 뿌리에서 추출된 불포화 지방산이 암세포 등 표적세포에 직접적인 손상을 일으키며 가장 항암효과가 높았음을 보고하였다. 이와 같이 식품이나 약재 등 민간약으로 예로부터 쓰여오는 천연물은 오랫동안 질병의 예방 및 치료에 사용되어 왔으며, 어떤 면에서는 꾸준히 실질적인 임상실험을 해왔다고 볼 수 있다. 현재까지 한국에서 수행된 연구 중 β -carotene이 많이 포함되어 있는 녹황색 채소 및 과일, 고구마, 해조류 등을 충분히 섭취한 사람의 혈청 중 β -carotene의 농도가 높았고 위암, 자궁경부암, 대장암 및 유방암 발생이 낮은 것으로 보고되었다. β -Carotene은 폐암 등을 예방하는 효과가 있다(8)는 것이 확인되고 또 사람에게 대한 암세포 억제효과가 인정되는 경우(9)가 있으나, 그 반대로 발암을 촉진한 예도 있었다(10) Culter(11)는 β -carotene과 vitamin A가 중요한 자연 항암 물질임을 입증한 바 있다 이와 같이 예부터 천연물 식품이나 약재들이 질병 예방 및 치료에 쓰여 왔었고 그에 대한 꾸준한 논쟁도 계속 되어왔다. 그러나 최근에는 한국과 중국을 비롯한 동양권

†To whom all correspondence should be addressed

에서 천연물에 대한 심오한 철학적 사고를 바탕으로 인류의 질병을 치료하는 새로운 지식이 전개되고 있으며 나아가 분석적인 서양식 검색방법이 접목되어 천연물로부터 새로운 항암 및 암 예방 활성물질 창출의 가능성이 높을 것으로 생각되고 있다. 본 연구는 우리 식생활 주변에서 손쉽게 구할 수 있고 애용되고 있는 식품인 당근 성분 중 생리활성 물질을 규명하고자 인체 암세포에 대한 세포독성효과 즉, 항암성 여부를 알아보고자 본 연구를 시도하게 되었다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 당근(*Daucus carota* L.)의 뿌리와 씨앗은 98년에 수확한 것으로서 뿌리는 양산임기 당근 밭에서, 씨앗은 동부 한농 종묘에서 구입하였다. 이 시료들을 추출·분획하여 각 암세포주에 의한 세포독성효과(cytotoxicity)에 사용하였다. 추가 비교 실험을 통해 당근으로부터 추출한 β -carotene을 Sigma사(St. Louis, USA)로부터 구입하여 실험에 사용하였다.

시료의 추출 및 분획

시료로 사용한 당근(*Daucus carota* L.) 뿌리와 씨앗은 흐르는 물에 깨끗이 씻고, 일정한 크기로 자른 후 그늘에서 건조시킨 후 분쇄하여 -30°C 의 냉동고에 보관하였다. 건조된 시료 중 뿌리(DCR)는 220 g에 methanol 1.5 L를 넣고 추출하였으며, 당근 씨앗(DCS)의 경우 975 g에 methanol 1.5 L를 가해 각각 3회씩 추출하여 회전식 진공농축기로 농축한 후 동결건조하여 각 methanol 추출물로 사용하였으며, methanol 추출물은 다시 n-hexane, ethylacetate, butanol 및 물가용부 각 과정을 거쳐 분배 후 취하고, 각 분배층은 농축하여 건조시킨 뒤 분말로 만들어 사용하였다.

암세포 배양

본 연구에 사용한 암세포주는 인체 간암세포인 HepG2 (human hepatocellular carcinoma), 유방암세포인 MCF7 (human breast adenocarcinoma pleual effusion), 난소암세포인 SW626 (human ovary adenocarcinoma), 자궁경부암세포인 HeLa (human cervix adenocarcinoma), 신경교종 세포인 C6 (mouse glioma) 및 신경 아세포인 NB41A3 (mouse neuroblast)로서, 1999년 3월 대전 소재 한국과학기술원 생명공학연구소로부터 분양 받아 37°C , 5% CO_2 incubator에서 배양하여 사용하였다.

이상에서와 같은 6종의 암세포(HepG2, HeLa, MCF7, SW626, C6 및 NB41A3)는 일주일에 2~3회 새로운 배지

로 교환하고 PBS(pH 7.0)로 세척한 후, 0.05% trypsin-0.002% EDTA를 사용하여 부착된 세포를 분리하여 원심분리한 후, 집적된 암세포에 배지를 넣고 암세포가 글로우 분산되도록 피펫으로 잘 혼합하여 75 mL cell culture flask에 10 mL씩 일정량 분할하여 주입하고, 4~5일마다 계대 배양하면서 실험에 사용하였다.

세포 독성(cytotoxicity)의 측정

3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) 분석법은 살아있는 세포내 미토콘드리아의 dehydrogenase에 의해서 생성되는 formazan을 spectrophotometer를 이용하여 측정함으로써 세포에 대한 독성을 조사하는 방법(12,13)으로서, 각종 항암제에 대한 *in vitro* 세포독성에 관한 연구에서 사용되어온 dye exclusion test나 [^3H]-thymidine uptake assay와 비교 시 실험 조작성이 매우 간편하고 재현성이 우수하여 세포독성여부 대량검색이나 초기 검색단계에 적당한 방법으로 많이 이용되고 있다(14) 그러므로 본 연구에서는 각 세포주를 1×10^5 cells/mL로 세포수를 조정하여 24 well plate에 1 mL씩 분주하고, 24시간 동안 배양(37°C , 5% CO_2)한 후 무처리구인 control군에는 dimethylsulfoxide(DMSO)로 독성 실험을 하였고, 각각의 시료는 DMSO에 녹여 100, 200, 300, 400 및 500 $\mu\text{g}/\text{well}$ 의 농도로 첨가하여 48시간 동안 다시 배양하였다. 이 배양액에 MTT용액을 각각 100 μL 씩 첨가하여 4시간 동안 배양시킨 후, well 바닥에 형성된 formazan이 용해되지 않게 조심스럽게 다루어 aspirator로 상등액을 제거하였다. 형성된 formazan에 DMSO와 EtOH을 1:1로 혼합한 용액 1 mL씩을 첨가하여 충분히 녹인 후 UV-spectrophotometer(Pharmacia Biotech 80-2105-20)를 이용하여 570 nm에서 흡광도값을 측정하여 재현성 여부를 검토한 후 첨가 시료의 암세포주에 대한 세포독성 여부를 비교 분석하였다.

결 과

당근의 methanol 추출물 및 분획물의 양

당근 뿌리(*Daucus carota* L., DCR)를 음건 후 이 건조된 당근 220 g을 methanol로 추출하여 추출물 74.97 g을 얻었다. 이 methanol 추출물(DCRM)을 n-hexane, ethylacetate 및 butanol의 각 용매별 계통분획에 의하여 분배하여 n-hexane분배층(DCRMH)은 2.85 g, ethylacetate분배층(DCRM EA)은 2.73 g 및 n-butanol분배층(DCRM B)은 11.69 g씩을 얻었고 나머지 물가용부(DCRM A)에서는 44.15 g을 얻었다. 같은 방법으로 잘 건조된 당근 씨앗(DCS) 975 g을 methanol로 추출하여 추출물(DCSM) 74.4 g을 얻었으며 위와 동일하게 각 용매별로 계통분획하여 n-hexane분배층(DCSMH)은 12.10 g, ethylacetate

분배층(DCSMEA)은 8.28 g 및 n-butanol분배층(DCSMB)은 13.28 g을 얻었으며 나머지 물가용부(DCSMA)는 37.55 g을 얻었다(Fig. 1)

당근의 methanol추출물과 각 용매 분배층의 세포독성효과

세포독성은 비특이적 방어기전으로서 암세포에 직접적으로 손상을 줄 뿐만 아니라 동물 생체 내 림프구나 대식세포와 같이 표적세포에 대하여 세포독성효과를 나타내는 작동세포를 자극함으로써 그 세포독성효과를 항진시키는 것으로 보고되어 있다(15)

Fig 2 및 3은 HepG2 인체 간암 세포에 대한 당근 뿌리와 씨앗의 methanol 추출물과 각 용매 분획물의 MTT assay에 의한 세포독성효과를 나타낸 것이다. 시료의 양을 100 µg/mL, 200 µg/mL, 300 µg/mL, 400 µg/mL 및 500 µg/mL씩 점차 증가시키면서 HepG2세포주에 첨가한 결과 당근 뿌리(DCR)추출물에서는 DCRMEA에서 가장 높은 세포독성효과를 나타내었고, 당근 씨앗(DCS)추출물에서는 DCSMA를 제외한 DCSM, DCSMH, DCSMEA 및 DCSMB에서 거의 비슷하게 99.5%의 아주 높은 암세포 저해효과를 나타내었다

Fig. 4 및 5는 자궁경부암 세포주인 HeLa에 대한 당근 뿌리와 씨앗의 methanol 추출물과 각 용매 분배층의 저해효과를 나타낸 것이다. HeLa세포주의 경우 HepG2에

서는 유일하게 효과가 컸던 DCRMEA층 외에 hexane층

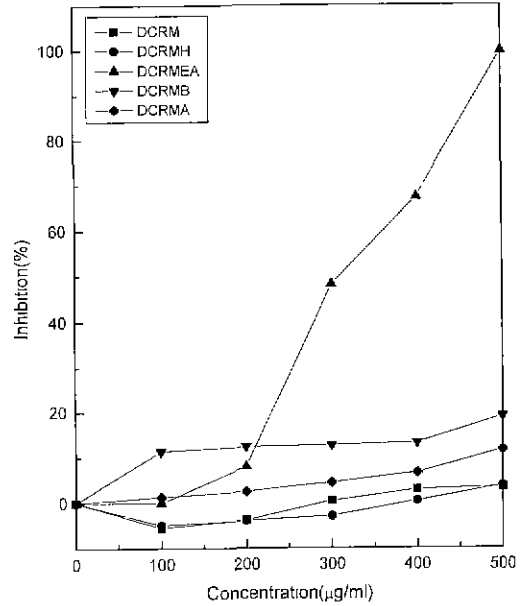


Fig. 2. Inhibitory effect on cell survival of the partition layers from methanol extract of *Daucus carota* L. root (DCR) on HepG2 cells.

DCRM: Methanol extracts of DCR.
DCRMH: n-Hexane partition layer of DCR.
DCRMEA: Ethylacetate partition layer of DCR
DCRMB: n-Butanol partition layer of DCR
DCRMA: Aqueous partition layer of DCR

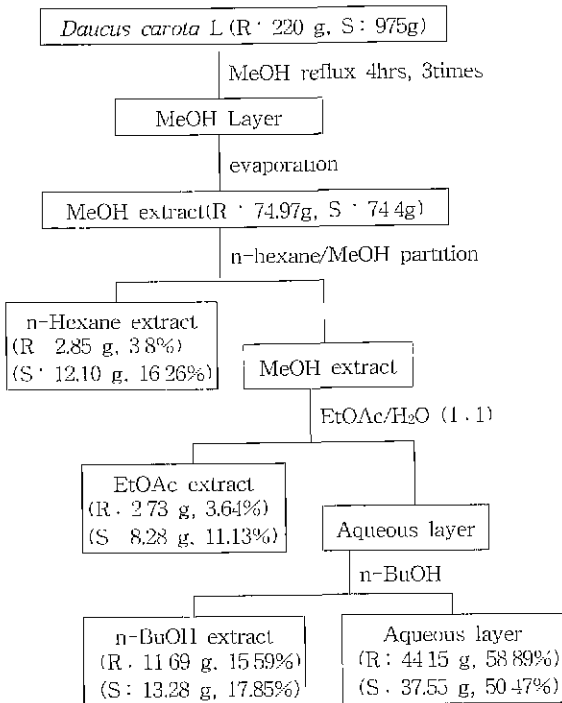


Fig. 1. Fractionation of *Daucus carota* L. R and S represent root and seed of *D. carota* L.

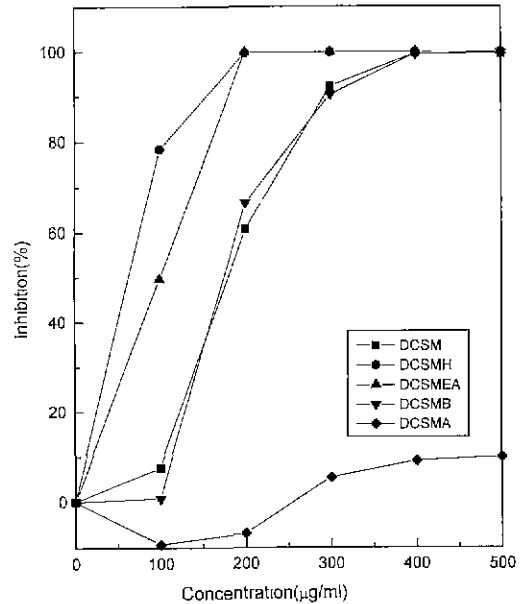


Fig. 3. Inhibitory effect on cell survival of the partition layers from methanol extract of *Daucus carota* L. seed (DCS) on HepG2 cells

DCSM: Methanol extracts of DCS.
DCSMH: n-Hexane partition layer of DCS.
DCSMEA: Ethylacetate partition layer of DCS.
DCSMB: n-Butanol partition layer of DCS.
DCSMA: Aqueous partition layer of DCS

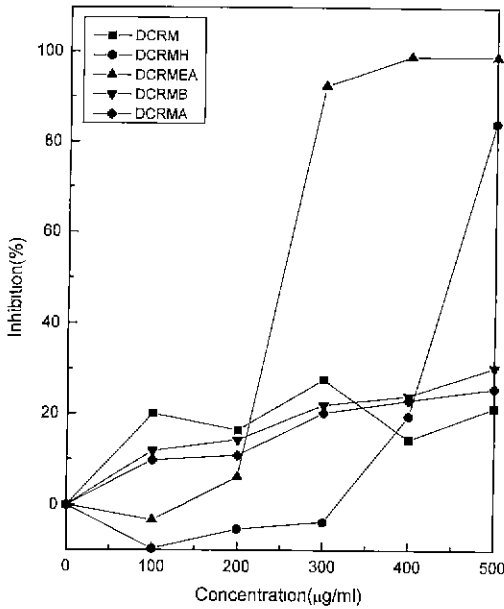


Fig. 4. Inhibitory effect on cell survival of the partition layers from methanol extract of *Daucus carota* L. root on HeLa cells. Refer to the legend in Fig 2

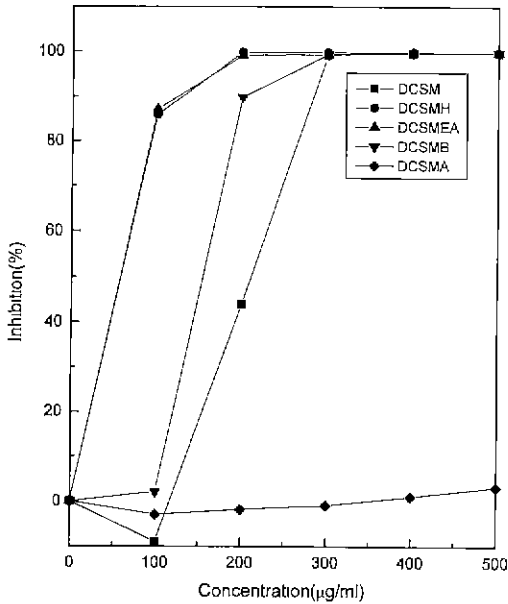


Fig. 5. Inhibitory effect on cell survival of the partition layers from methanol extract of *Daucus carota* L. seed on HeLa cells. Refer to the legend in Fig 3

인 DCRMH층에서도 세포독성효과가 있음을 확인할 수 있었다. 또 당근 씨앗(DCS)에서는 HepG2세포주와 같이 HeLa세포주에서도 불분배층을 제외한 나머지 4개의 분배층 DCSM, DCSMH, DCSMEA 및 DCSMB에서 높은 암세포 사멸효과를 보였다.

MCF7 유방암에 대한 결과는 Fig. 6 및 7에 나타내었다. Fig. 6에서 나타난 바와 같이 당근 뿌리에서는 DCRMH가 51.1%, DCRMEA가 48.8%의 암세포 사멸효과를 보여 앞서 HepG2와 HcLa세포주의 세포독성효과 결과에 비해서는 아주 미약하였다. 또 당근 씨앗추출물에서는 HepG2

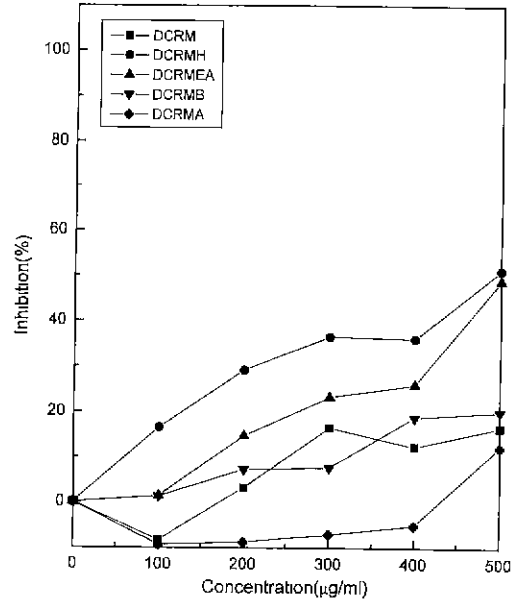


Fig. 6. Inhibitory effect on cell survival of the partition layers from methanol extract of *Daucus carota* L. root on MCF7 cells. Refer to the legend in Fig. 2

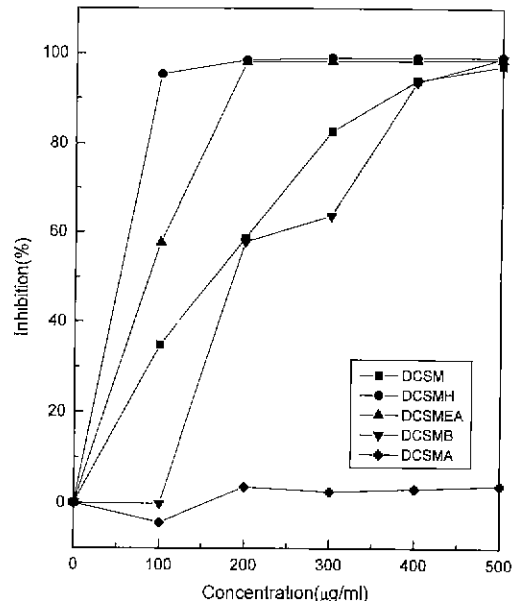


Fig. 7. Inhibitory effect on cell survival of the partition layers from methanol extract of *Daucus carota* L. seed on MCF7 cells. Refer to the legend in Fig. 3

와 HeLa의 결과와 거의 비슷하여 DCSMA를 제외한 나머지 4개의 용매 층에서는 95% 이상의 암세포 사멸효과를 보였다.

SW626 난소암 세포주에 대한 결과는 Fig. 8 및 9에 나타내었다 Fig. 8에 나타난 당근 뿌리를 첨가한 경우

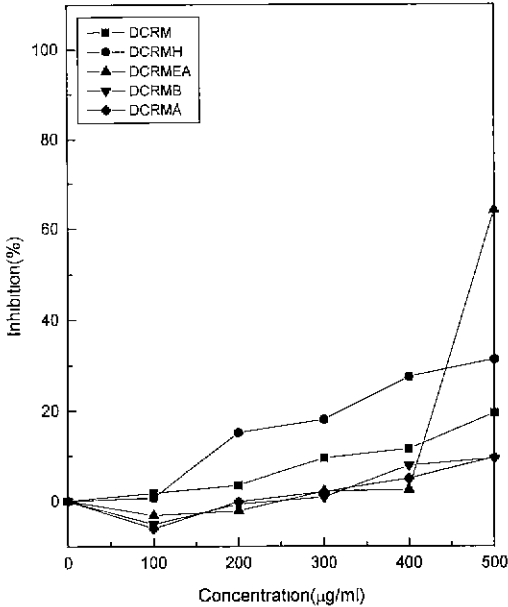


Fig. 8. Inhibitory effect on cell survival of the partition layers from methanol extract of *Daucus carota* L. root on SW626 cells Refer to the legend in Fig. 2.

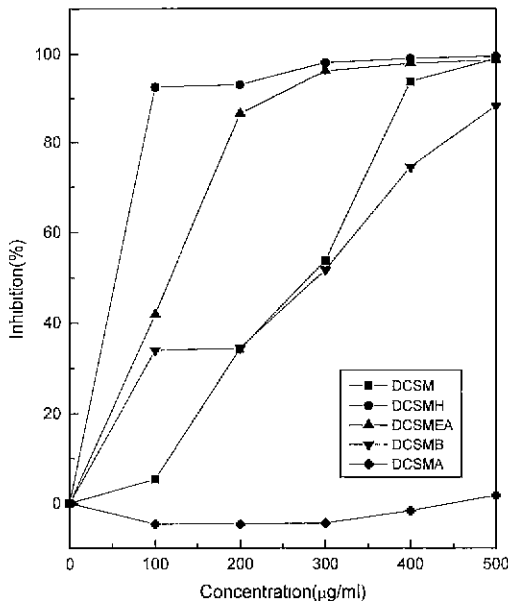


Fig. 9. Inhibitory effect on cell survival of the partition layers from methanol extract of *Daucus carota* L. seed on SW626 cells Refer to the legend in Fig. 3.

DCRMEA의 농도를 100, 200, 300 µg/mL 가했을 때 MCF7 세포주 결과와 비슷하게 세포독성효과가 미약하였으나 500 µg/mL 첨가시 약 64%효과를 나타내었다. 또 당근 씨앗에서는 DCSM, DCSMH 및 DCSMEA의 경우 각각 99%, 99.5% 및 98.6%의 세포독성효과를 보여 HepG2, HeLa 및 MCF7의 결과와 그 효과가 거의 비슷하였으나, DCSMB의 경우는 HepG2와 HeLa 및 MCF7세포주에 비해서 약 80%로 그 효과가 조금 미약하였다.

C6 신경 교종 세포와 NB41A3 신경 아세포에 대한 결과는 Fig. 10~13에 나타내었다. C6와 NB41A3에 대한 당근 뿌리의 DCRMEA 첨가시 HepG2, HeLa 및 SW626세포주들에서와 같은 강한 독성효과를 나타내었다. 즉 C6와 NB41A3의 두 세포주 모두 DCRMEA 첨가시 99.7%의 세포 사멸효과를 보였으며 당근 씨앗에서는 두 세포주 모두 HepG2, HeLa, MCF7 및 SW626의 세포독성효과에서와 같이 DCSMA를 제외한 4개층에서 아주 높은 암세포 사멸효과를 보였다. Fig. 15에서 보듯이 세포에 첨가물의 농도가 증가할수록 암세포의 그 수가 저하되었고, 세포의 부착 능력이 없어지면서 암세포의 증식이 감소되었음을 확인할 수 있었다.

본 실험에서는 항 산화제로 널리 알려져 있으며 당근에 다량 함유된 β-carotene의 세포독성효과를 실험결과와 비교하기 위해 당근으로부터 추출한 β-carotene을 Sigma사에서 구입하여 본 실험 추출물의 세포독성효과와 비교 측정하였다. Fig. 14에서 보듯이 본 실험에 사용했던 6종의 암세포주인 HepG2, HeLa, MCF7, SW626, C6 및 NB41A3에 본 실험의 최종 농도인 500 µg/mL씩 β-carotene

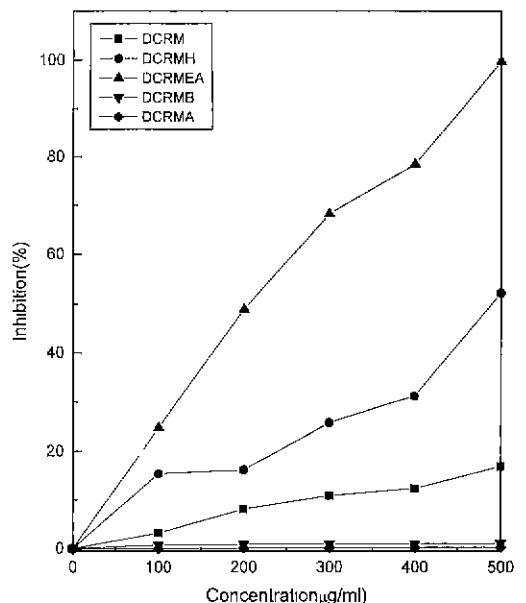


Fig. 10. Inhibitory effect on cell survival of the partition layers from methanol extract of *Daucus carota* L. root on C6 cells. Refer to the legend in Fig. 2

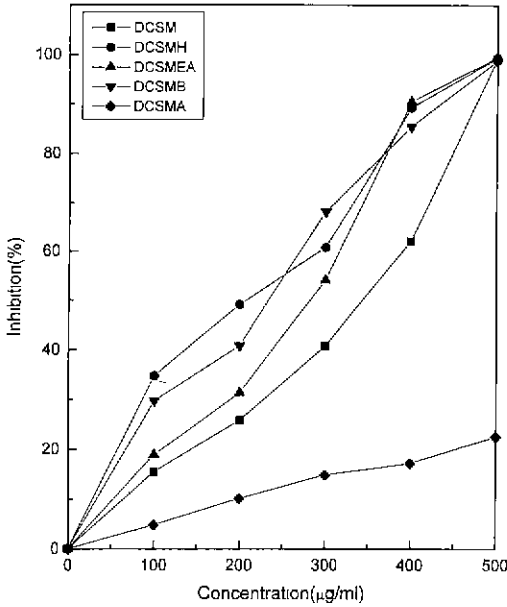


Fig. 11. Inhibitory effect on cell survival of the partition layers from methanol extract of *Daucus carota* L. seed on C6 cells. Refer to the legend in Fig. 3.

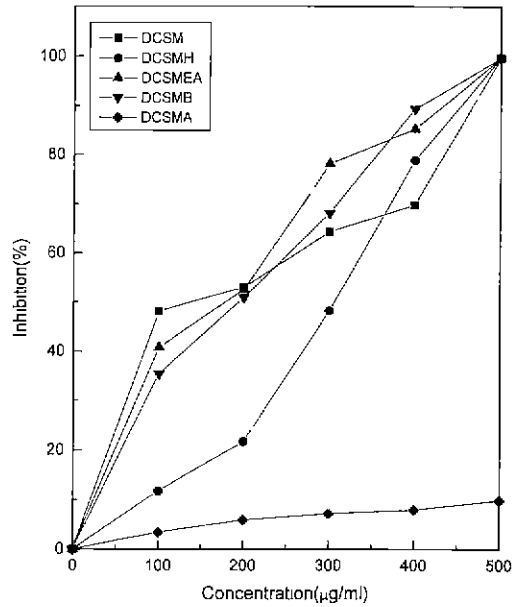


Fig. 13. Inhibitory effect on cell survival of the partition layers from methanol extract of *Daucus carota* L. seed on NB41A3 cells. Refer to the legend in Fig. 3.

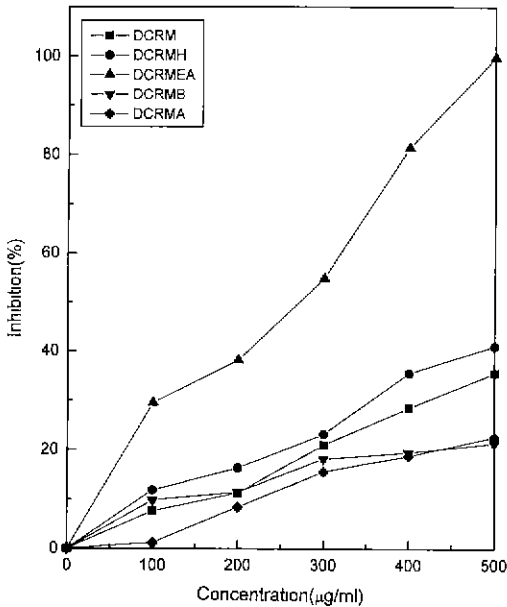


Fig. 12. Inhibitory effect on cell survival of the partition layers from methanol extract of *Daucus carota* L. root on NB41A3 cells. Refer to the legend in Fig. 2.

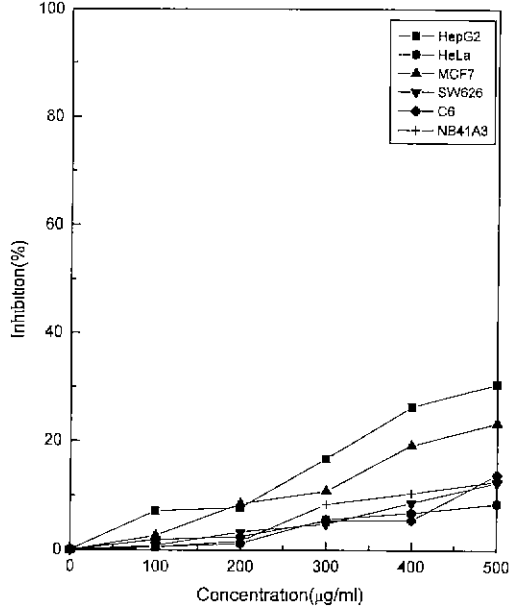


Fig. 14. Inhibitory effect on cell survival of β -carotene on cancer cells.
 HepG2 Human hepatocellular carcinoma.
 HeLa. Human cervix adenocarcinoma.
 MCF7: Human breast adenocarcinoma pleural effusion
 SW626 Human ovary adenocarcinoma.
 C6 Mouse glioma
 NB41A3. Mouse neuroblast

을 첨가하였을 때 HepG2세포주에서는 30.4%의 세포독성효과를 보였으며, HeLa세포주에서는 8.5%, MCF7세포주에서는 23.3%, SW626세포주에서는 12.4%, C6세포주에서는 20.9% 및 NB41A3세포주에서는 12.6%의 세포독성효과를 보여 각 분배층을 가한 본 실험 결과에 비해서는 아주 약하였다. β -Carotene의 경우 당근 추출물과

분배층을 사용한 본 실험 결과에서 나타난 세포독성효과와 비교해 보았을 때, 당근 중 대표적 활성 물질로서는 이제까지 널리 알려진 provitamin A인 β -carotene이 아

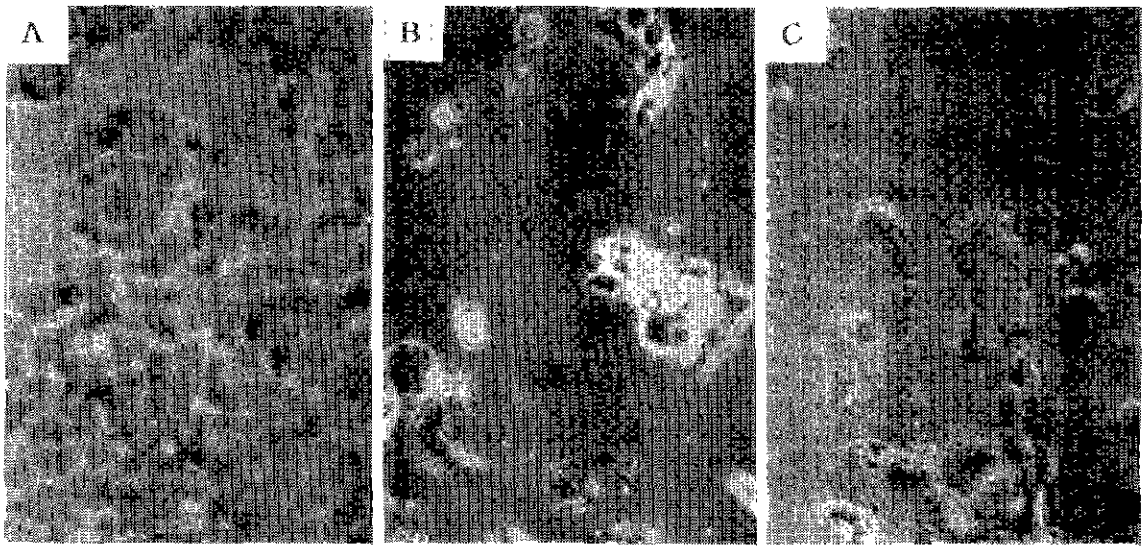


Fig. 15. Photomicrographs (X200) of HepG2 cells on various partition layers of *Daucus carota* L. at 500 µg/mL.
A: HepG2 cells(control), B DCRMEA, C DCSMB

닌 다른 물질도 암세포 독성에 대한 활성효과가 있음을 본 실험을 통해 유추할 수 있었다. 더우기 지용성인 β -carotene은 benzene, chloroform 및 hexane 등 유기 용매에만 녹는 지용성 물질로서, 당근 뿌리추출성분에서 불꽃과 같이 극성과 비극성 물질을 모두 추출해 내는 ethylacetate층에서 아주 강한 세포독성효과를 보였으며 본 결과에 따르면, ethylacetate층에 암세포 생리활성 물질이 있는 것으로 생각되어진다. 또 당근 씨앗의 경우에서도 극성과 비극성 용매에서 추출하고 분배되는 methanol, ethylacetate, butanol 및 hexane층에서 아주 높은 세포독성효과를 나타내었으므로 본 실험 결과에서 보여준 각 추출물과 분배층에 새로운 세포독성효과를 가진 물질이 있음을 본 연구를 통해 확인할 수 있었다.

고 찰

현재 자연계에 존재하고 있는 천연물 중 약이 되는 성분들이 많이 있으며, 천연물들을 이용하여 이 성분들의 각 추출물을 분리하고 생리활성이 있는 유효성분을 탐색함으로써 질병의 예방 및 치료제로 이용하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다.

본 연구에서는 미나리과 식물 중의 하나인 당근추출물을 사용하여 인체 간암세포주인 HepG2, 자궁경부암 세포주인 HeLa, 유방암 세포주인 MCF7, 난소암 세포주인 SW626, 신경교종세포주인 C6 및 신경 아세포주인 NB41A3에 대한 세포독성효과를 검토하였다.

MTT assay를 통한 세포독성효과 측정결과, 당근뿌리와 씨앗의 methanol 추출물과 각 용매 분배층의 첨가물의 농도가 증가함에 따라 사용한 6종의 암세포주에 대한

세포독성효과가 비례적으로 증가하였다. 특히 당근 뿌리추출액의 ethylacetate층에서는 다른 용매층과는 뚜렷이 구분되므로써 6종류의 인체 암세포주에 대해 높은 세포독성효과를 보였으며, 당근 씨앗에서는 실험에 사용한 6종의 암세포주에서 추출물의 농도가 500 µg/mL 일 때 모두 DCSMA를 제외한 DCSM, DCSMH, DCSMEA 및 DCSMB에서 공통적으로 99%이상의 높은 세포독성효과를 보였다. 본 실험결과와 비교하기 위해 당근으로부터 추출한 β -carotene을 구입하고 동일한 조건하에서 6종의 암세포주에 첨가하였을 때 본 실험결과에서 나타난 세포독성효과에 비해 그 효과는 아주 미약하였다. 또한 간암세포주인 HepG2를 현미경으로 관찰한 결과 각 첨가물의 농도가 증가할수록 암세포의 수가 저하되었고, 세포들의 부착능력이 없어지면서 증식이 감소되었음을 육안으로 확인할 수 있었다.

문 헌

- Weinstein, I.B. Cancer prevention: Recent progress and future opportunities. *Cancer Res*, 51, 5080-5085 (1991)
- American Cancer Society. *Cancer facts and figures*. American Cancer Society (1993)
- Cooper, G.M. *Elements of human cancer*. Jones and Bantlett publishers, Inc., Boston, p 31 (1992)
- Doll, R. and Peto, R. The causes of cancer-Quantitative estimate of avoidable risks of cancer in the united states today. *J Natl. Cancer Inst*, 66, 1191-1196 (1981)
- Ham, S.S., Chung, C.K., Lee, J.H., Choi, K.P., Jung, S.W. and Kim, E.J. Antimutagenicity and cytotoxicity of *Artemisia inayomogi* Kitamura extracts. *J. Kor. Soc Food Sci Nutr.*, 27, 157-162 (1998)
- Yook, C.S., Rho, Y.S., Seo, S.H., Leem, J.Y. and Han, D

- R. : Chemical components of *Acanthopanax divaricatus* and anticancer effect in leaves. *Yakhak Hoeh*, **40**, 251-261 (1996)
7. Hwang, B.H., Zhao, J.L., Choi, K.P., Jung, S.W., Kim, E.J. and Ham, S.S. : The antimutagenic and anticancer effect of *Taxus cuspidata* extracts. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, **25**, 1062-1068 (1996)
 8. Gerster, H. : Beta-carotene and smoking. *J. Nutr. Growth Cancer*, **4**, 45-49 (1987)
 9. Shibata, A., Sasaki, R., Ito, Y., Reuler, J.B. and Broudy, V.C. : Serum concentration of beta-carotene and intake frequency of green-yellow vegetables among healthy inhabitants in Japan. *Int. J. Cancer*, **44**, 48-52 (1989)
 10. Owens, W.C. and Cross, K.W. : The α -tocopherol, β -carotene cancer prevention study group. *N Engl. J. Med.*, **330**, 1029-1039 (1994)
 11. Culler, R.G. : Potential role of the antioxidant vitamins and carotenoids in governing human aging rate. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **1**, 7627-7631 (1984)
 12. Michael, C.A., Dominic, A.S. and Anue, M. : Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. *Cancer Res.*, **48**, 589-595 (1988)
 13. Carmichael, J., De Graff, W.G., Gazdar, A.F., Minna, J.D. and Mitchell, J.B. : Evaluation of a tetrazolium based semiautomated colorimetric assay : assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res.*, **47**, 936-942 (1987)
 14. Kim, J.H., Kim, B.S., Choi, J.J., Kim, K.M., Yoo, N.C., Choi, J.H., Lim, H.Y., Roh, J.K., Lee, K.S. and Kim, B.S. : Effects of verapamil, tamoxifen and cyclosporin A for the modulation of multidrug resistance in human lung cancer cell lines. *J. Kor. Cancer Assoc.*, **25**, 225-230 (1993)
 15. Fischer, S.M., Leyton, L.J., Lee, M.L., Locrislar, M., Belury, M.A. and Maldve, R.E. : Differential effects of dietary linoleic acid on mouse skin-tumor promotion and mammary carcinogenesis. *Cancer Res.*, (Suppl), **52**, 2049-2056 (1992)

(1999년 12월 10일 접수)