

백혈병세포주 Jurkat의 세포주기 억제에 미치는 합환피(*Albizzia julibrissin*) 물 추출물의 효과

황상구 · 이형철 · 김대근 · 안원근¹ · 전병훈*

원광대학교 한의과대학 한의학과 병리학교실, ¹경북대학교 자연과학대학 생물학과

Effect of the Water Extract of *Albizzia julibrissin* on Cell Cycle Progression in the Human Leukemic Jurkat Cells

Sang-Gu Hwang, Hyung Chul Lee, Dae Geun Kim, Won Gun An¹ and Byung Hun Jeon*

Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Wonkwang University, Iksan, Chonbuk 570-749, Korea and

¹Department of Biology, College of Natural Sciences, Kyungpook University, Daegu 702-701, Korea

Abstract – *Albizzia julibrissin* belonging to the family Leguminosae has been used for the treatment of contusion, sore throat, amnesia, and insomnia in Oriental traditional medicine. The water extract of *A. julibrissin* induced apoptosis in Jurkat T-acute lymphoblastic leukemia (ALL) cells as measured by cell morphology. The capability of this herb medicine to induce apoptosis was associated with proteolytic cleavage of specific target protein such as beta-catenin protein suggesting the possible involvement of caspases. The purpose of the present study is also to investigate the effect of *A. julibrissin* on cell cycle progression. Our results showed that G1 checkpoint related gene products (cyclin D1, cyclin dependent kinase 4, retinoblastoma, E2F1) were decreased in their protein levels in a dose-dependent manners after treatment of the extract. These results indicate that the increase of apoptotic cell death by *A. julibrissin* may be due to the inhibition of cell cycle progression in wild type p53-lacking Jurkat cells.

Key words – *Albizzia julibrissin*, Water extract, Acute lymphoblastic leukemia, Jurkat T cells, Cell cycle, G1 checkpoint.

현재까지 원하는 치료 효과를 이루지 못하고 있는 암은 난치병으로 인식되고 있으며 사망원인 중 심혈관질환 다음으로 높은 비중을 차지하고 있다.¹⁾ 동양의학에서는 암을 각종의 원인으로 인해 발현되는 체내종괴의 범주에 포함시켰고,²⁾ 서양의학에서는 세포가 정상적인 조직 기능의 범주에서 벗어나 개체에 불리하게 과잉성장하고 정상조직을 파괴하는 세포조직으로 정의하고 있다.³⁾ 암을 치료하기 위하여 서양의학에서는 화학요법과 방사선요법을 높은 빈도로 사용하고 있으나 그 치료방법이 정립되어 있지 않을 뿐만 아니라 간장장애, 탈모, 조혈장애를 포함한 여러 가지 부작용이 초래되는 문제점이 있다.⁴⁾ 특히, 백혈병은 韓醫學에서 熱勞, 急勞, 血證, 溫病, 積聚, 痰核 등의 범주에 속하며 그 주요한 病因病機를 살펴보면 內因으로는 勞倦, 饑飽, 房欲, 七情所傷, 外因으로는 溫熱毒邪侵襲으로 熱毒이 蘊結되고, 營分

이 傷하여 血이 動함으로서 발생한다고 파악하고 있다.⁵⁾ 최근 한의학에서는 종양 환자에 대하여 한의학적 특색에 따른 證型 연구를 진행하였고 부작용이 비교적 적은 한약재나 한방처방을 중심으로 항종양효과를 극대화하려는 다양한 실험 연구가 진행되고 있다.^{6,8)} 현재까지 기존의 항암제 효능을 앞서가는 한약재나 처방이 검색되지 않았지만 임상에서의 우수한 치료효과를 근거로 과학적인 유효성 규명이 이루어진다면 한의학의 종양 치료에 대한 가능성을 무한히 입증하게 될 것이다.

현대의학에서 과학의 발달과 더불어 암의 발생기전을 밝히고, 치료 및 예방을 위해 세포와 유전자 차원의 연구가 진행되고 있으며 현재에는 분자생물학적인 기법이 광범위하게 적용되고 있다. 특히, 세포주기 및 이에 영향을 미치는 유전자에 대한 연구는 한의학적 치료와 기전에 대한 검증, 새로운 한의학 치료법의 개발을 위해 필수적으로 이루어져야 한다. 세포주기는 생물의 종류와 환경에 따라 다르

*교신저자(E-mail) : omdjbh@wonkwang.ac.kr

며 DNA의 변화를 기준으로 G1기, S기, G2기 및 M기로 나눌 수 있다.⁹⁾ 세포가 분열하기 위해서는 G1기에서 S기로 이행되어야 하며 이러한 조건을 만들기 위해서는 성장호르몬을 포함한 여러 종류의 인자들이 작용을 한다.¹⁰⁾ 또한 S기 진입의 속도를 결정하는 중요한 유전인자로는 cyclin D와 E, cyclin dependent kinase (CDK)들이 있다.¹¹⁾ Retinoblastoma (RB) 항암단백질은 S기 진입에 필요한 E2F 같은 전사인자들과 결합하여 세포주기의 진행을 억제하는데, 활성화된 cyclin D/CDK4 또는 CDK6 복합체가 RB 단백질을 인산화시키면 RB 단백질은 불활성화되면서 복합체를 형성하고 있던 E2F 전사인자를 방출시키게 된다. 이로써 RB에 의한 세포성장 억제기전이 해제되고 유리된 E2F는 DNA합성과 연관된 많은 유전자들의 발현을 촉진시키게 된다.^{12,13)} G2 checkpoint에서는 세포질이 충분히 형성된 G2기에서 세포분열이 일어나는 M기로의 진행여부가 결정되어지는데 Cdc-2, cyclin A와 B의 유전자 변화로 모니터링할 수 있으며, 비정상적인 유전자의 발현은 G2기에서 세포주기를 멈추게 한다. 이러한 세포주기 조절인자들의 기능에 불균형이 초래된다면 과다한 세포분열이 초래되어 암화 과정에 접어들기도 한다.¹⁴⁾ 이와 같이 세포주기 조절과 암 발생과는 밀접한 관계가 있을 것으로 생각되며, 그 기전을 더욱 깊이 설명하기 위해서는 암세포와 정상세포 사이에서 세포주기 조절이 어떻게 변화되어 있는지를 분자 생물학적 및 세포생물학적 수준에서 연구함이 필수적이다.

합환피는 자귀나무 (*Albizia julibrissin* Durazzini)의 수피를 건조한 것으로서 한방에서는 불면증, 강장, 흥분, 이뇨, 진통, 구충제로 널리 사용되어 왔다.¹⁵⁾ 수피로부터 분리된 성분으로는 quercetin 3-O-galactoside, quercetin 3-O-rhamnoside,¹⁶⁾ flavonoid인 3',4',7-trihydroxyflavone과 a-spinasteryl glucoside,¹⁷⁾ 수종의 triterpenoid,^{18,19)} saponin²⁰⁾ 및 lignan²¹⁾ 등이 보고되었다. 본 연구에서는 합환피의 물 추출물을 이용하여 급성림프성 백혈병세포주인 Jurkat의 세포주기에 미치는 영향을 알아보았다. 특히, 합환피에 의해 유도된 Jurkat 세포의 apoptosis가 G1 checkpoint 관련 유전자들의 변화와 관련 있는지를 조사하였다.

재료 및 방법

시료의 제조 - 시료는 서울 경동시장에서 구입하였으며 원광대학교 한의과대학 본초학교실에서 선별된 약재만을 사용하였다. 현재 시료 및 추출물 (Ph-181)은 원광대학교 한의과대학 병리학교실에 보관되어 있다. 합환피 200 g을 등근 플라스크에 넣고 증류수 2,000 ml을 넣은 후 3시간 동안 가열, 추출하고 침전물을 3M 여과지를 이용하여 3회 여과

하였다. 이 여과액을 rotary vacuum evaporator에서 감압, 농축하였다. 농축된 용액을 -70°C deep freezer에서 12시간 동안 방치하고, 30시간 동안 freeze dryer로 동결 건조하여 10%의 수율인 20 g의 분말을 얻었다.

세포배양 - 사람 T 세포성 유래의 급성림프성 백혈병세포주인 Jurkat은 미국 세포주은행인 the american type culture collection (ATCC, Rockville, MD, USA)으로부터 분양 받아, 실험실에서 37°C, 5% CO₂ 공급 조건을 갖춘 Sanyo회사 배양기에서 배양하였다. 부유성인 Jurkat 세포의 배양액은 L-glutamine이 포함된 RPMI 1640 배지에 56°C 수조에서 30분간 가온하여 불활성화시킨 fetal bovine serum (FBS)을 10% 포함하고, 1% 항생제(100 units/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin)와 배지 1 L당 NaHCO₃ 2 g을 첨가하여 제조하였다.

세포사멸 유도 - 세포들은 plastic culture dish에서 배양되었고, 4 × 10⁵ cells/ml 정도의 세포 수를 가진 10 ml 배양 배지에 합환피 추출물을 투여하였다. Jurkat 세포들은 여러 가지 농도(5, 10, 20, 30, 40 µg/ml)의 추출물로 24시간 동안 처리하였다. 합환피 분말은 4°C에 저장하였고 사용 직전에 40 mg/ml 농도로 만든 후 실험에 필요한 농도로 RPMI 1640 배지에 희석하여 사용하였다. 세포사멸은 아래에 기재된 세포 형태의 변화 및 beta-catenin 단백질의 가수분해 패턴 등을 비교하여 결정하였다.

항체 - Monoclonal anti-beta-catenin 항체는 Transduction Laboratories (Lexington, KY, USA) 회사로부터 구입하였고, monoclonal anti-cyclin D3, monoclonal anti-E2F1 항체와 polyclonal anti-CDK4, polyclonal anti-RB 항체는 Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA, USA) 회사로부터 구입하였다. Peroxidase-labeled sheep anti-mouse immunoglobulin과 peroxidase-labeled donkey anti-rabbit immunoglobulin 이차 항체는 Amersham Life Sciences (Cleveland, OH, USA) 회사로부터 구입하였다.

형태학적 변화 조사 - Jurkat 세포를 각 well당 1 × 10⁵ 개씩 넣고 24시간 경과 후 합환피 추출물을 농도별로 첨가하여 24시간 동안 배양하였으며, 현미경(Diaphot 300, Nikon, Japan)을 이용하여 100배율하에서 대조군과 실험군의 형태학적 변화를 관찰하였다.

Western Blot Analysis - 실험에 이용된 세포를 15 ml tube에 모은 후, 냉장 보관하였던 phosphate-buffered saline (PBS)로 2~3번 씻고 2000 rpm에서 3분간 원심분리하였다. 상등액을 없앤 후 cell pellet에 EBC lysis buffer (50 mM Tris-HCl, pH 8.0, 120 mM sodium chloride, 0.5% Nonidet P-40)를 넣고 20분간 얼음 위에 놓아두면서 5분마다 교반하였다. Lysate를 13,000 rpm에서 15분 동안 원심분리한 후 상

등액만을 취하여 다른 tube에 옮겼다. 단백질 농도는 Bradford 방법(Bio-Rad)에 준하여 측정하였으며, 표준 단백질로 bovin serum albumin (BSA)를 사용하였다. 각 실험군마다 동일양(60 µg)의 단백질이 SDS-polyacrylamide gel 전기영동을 이용하여 분리하였으며, 젤상에 있는 모든 단백질은 nitrocellulose membrane (Hybond C, Amersham Corp.)으로 옮겨졌다. Membrane은 0.5% (v/v) tween-20을 포함한 Tris-NaCl-Tween 20 (TNT) buffer를 이용하여 만들어진 5% (w/v) nonfat milk 용액에 넣어서 선처리 하였다. Nonfat milk 용액에 1 µg/ml 농도로 만들어져 있는 beta-catenin, cyclin D3, CDK4, E2F1, 및 RB 일차 항체를 1시간 동안 실온에서 membrane에 처리하였다. Membrane들을 TNT buffer에 의해 10분 간격으로 3번 세척하였고, 일차 항체에 알맞은 이차 항체(oxidase-labeled sheep anti-mouse immunoglobulin과 oxidase-labeled donkey anti-rabbit immunoglobulin)로 1시간 동안 실온에서 membrane을 반응시켰다. 다시 membrane들을 TNT buffer로 세척하였고 enhanced chemiluminescence reagent (Amersham)을 이용하여 2분간 반응시킨 후 X-ray 필름을 이용하여 반응의 강도를 확인하였다.

결과 및 고찰

기존 항암제의 부작용을 최소화하기 위하여 생약을 이용한 연구가 비교적 활발히 진행되어 주목, 喜樹, 長春花로부터 택솔, camptothecin, vincristine 등의 항암제가 분리되었으며, 이는 항종양 연구에 약용 및 식용으로 이용할 수 있는 식물의 무한한 개발 가능성을 보여주고 있다. 그러므로 본 연구는 콩과에 속하는 낙엽교목인 자귀나무의 수피를 건조한 합환피를 이용하여 백혈병 세포주인 Jurkat에 대한 apoptosis 유도효과를 이미 살펴보았으므로 그 항암효능을 세포주기와 관련된 신호기전을 통하여 밝히고자 하였다. 합환피 물 추출물에 노출된 Jurkat 세포들의 활성을 trypan blue 용액과 MTT 측정에 의해서 살펴본 결과 농도 의존적으로 감소함을 살펴보았다.²²⁾ 이러한 세포들의 증식이 감소한 원인이 세포사멸에 의한 것인지를 알아보기 위하여 세포들의 배양 배지에 여러 가지 농도(0-30 µg/ml)의 추출물을 24시간 동안 처리하여 세포를 배양한 후 외부형태학적 변화를 대조군과 비교하였다. 그 결과 대조군은 세포모양에 아무런 변화가 없었으나 합환피에 노출된 세포들은 세포막의 파괴와 외부 용기의 돌출현상을 볼 수 있었다(Fig. 1). 또한 합환피 추출물의 처리 농도가 높아질수록 세포의 밀도는 대조군에 비해 점차 감소하였으며 세포막 용기의 돌출현상을 가진 세포 수는 점점 증가함을 알 수 있었다(Fig. 1).

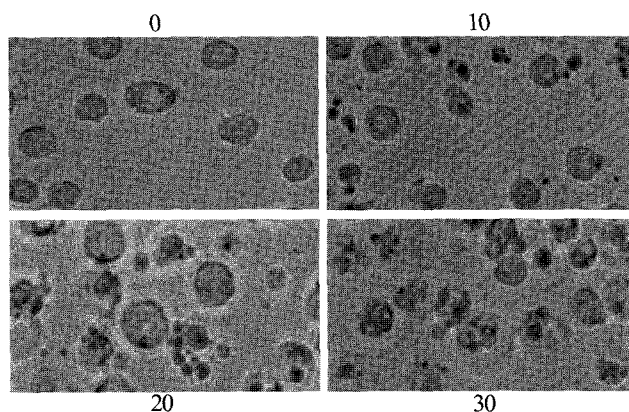


Fig. 1. Morphology of control and extract-treated Jurkat cells observed by microscope. Cells were incubated for 24 h at 37°C with the 10, 20, and 30 µg/ml of *A. julibrissin* extract. The morphology of extract-treated cells were compared with that of control cells under 100X microscope.

일반적으로 세포는 세포독성 유발 물질, 성장 인자의 결핍, 바이러스 감염 등을 포함하는 다양한 종류의 외부자극에 의해 세포사멸을 유도하는 것으로 알려져 있다.²³⁾ 세포사멸은 다양한 외부 형태적, 생화학적 변화를 동반하는데 세포의 크기가 축소되고, 세포막 용기가 돌출하는 현상이 생기며, 핵에서는 염색사 응축과 핵 분절 등의 변화가 동반된다.²⁴⁾ Fig. 1의 결과는 세포사멸이 초래되는 세포에서의 현상과 잘 일치하므로 합환피가 Jurkat 세포의 성장을 억제시키면서 세포사멸을 유도하는 것을 보여준다. 최근 연구에 의하면 시스테인 분해효소인 caspase-3는 세포내의 생존신호에 관련된 단백질을 분해하여 불활성화시키고 또한 세포골격단백질을 절단하여 구조적인 변화를 유발하여 세포사멸을 일으키는데 결정적인 역할을 수행하는 것으로 알려져 있다. 그 중 beta-catenin은 caspase-3의 주요 기질로 알려져 있으므로²⁵⁾ 단백질 분해 양상을 조사하기 위하여 Jurkat 세포 배양 배지에 합환피를 Fig. 2와 같이 농도별로 처리하고 24시간 동안 세포를 배양하였다. 그 결과 5 µg/ml의 저농도에서 wild type의 beta-catenin 단백질 수준이 감소하는 경향이 나타났으며, 처리 농도가 높으면 높을수록 beta-catenin 단백질 가수분해 정도가 증가함을 알 수 있었다(Fig. 2). 합환피 처리에 의한 beta-catenin 단백질의 분해현상은 caspase-3 활성의 가장 주요한 증거 중의 하나이며, 이런 관점에서 볼 때 합환피로 유도되는 Jurkat 세포사멸 현상에 caspase-3의 활성이 일어남을 간접적으로 보여준다.

D-type의 cyclin은 CDK와 결합하여 RB 단백질을 인산화시켜 세포주기 중 G1기에서 S기로의 전이를 촉진하는데 중요한 역할을 한다. 많은 암세포에서 cyclin D1의 과다발현이 관찰되었으며 이는 끊임없는 세포증식과 관련되어 있음

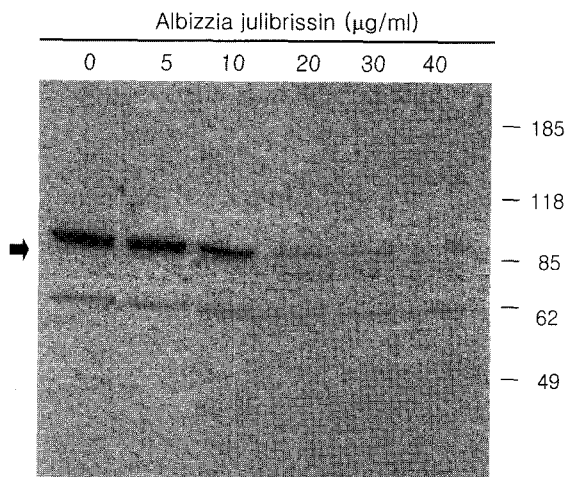


Fig. 2. Induction of beta-catenin cleavage during apoptosis induced by *A. julibrissin* in Jurkat cells. Cells were incubated for 24 h at 37°C with the 5, 10, 20, 30, and 40 µg/ml of *A. julibrissin*. Whole cell lysates were prepared using EBC lysis buffer. The samples were resolved on 7.5% SDS-PAGE gels, transferred to nitrocellulose membranes, and the blots were probed with beta-catenin.

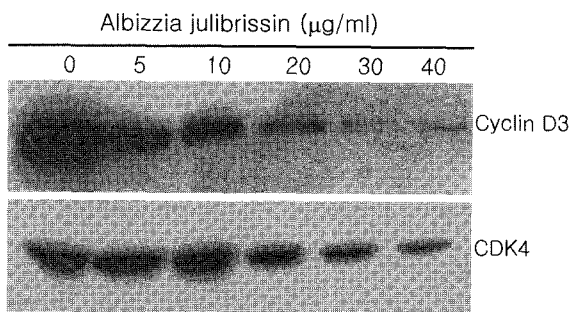


Fig. 3. Expression levels of cyclin D3 and CDK4 proteins during apoptosis induced by *A. julibrissin* in Jurkat cells. Cells were incubated for 24 h at 37°C with the 5, 10, 20, 30, and 40 µg/ml of *A. julibrissin*. Whole cell lysates were prepared using EBC lysis buffer. The samples were resolved on a 11% SDS-PAGE gel, transferred to a nitrocellulose membrane, and the blots were probed for cyclin D1 or CDK4.

을 보여주었다.²⁶⁾ 본 연구에서는 Jurkat 세포에서 D-type의 단백질 발현수준을 알아보기 위하여 추출물의 농도를 5, 10, 20, 30 및 40 µg/ml로 증가시키면서 세포 배양배지에 처리하여 24시간 동안 세포를 배양하였다. Western blot analysis의 결과 cyclin D1 및 cyclin D2 단백질은 대조군과 실험군 모두에서 검출되지 않았다(data not shown). 이러한 결과는 cyclin D1과 cyclin D2 단백질의 발현수준이 Jurkat 세포에서는 너무 적어 Western blot으로 검출이 되지 않은 것으로 보인다. 그러나 cyclin D3 단백질의 발현수준은 대조군에서는 많은 양으로 검출되었으나 합환피를 처리한 실험군에서

는 농도 의존적으로 단백질 발현수준이 감소하였음을 보여주었다(Fig. 3). 이는 G1기에 관여하는 3종류의 D-type cyclin 중 cyclin D3가 Jurkat T 세포에서 가장 현저하게 발현되는 것으로 볼 수 있으며 cyclin D3의 단백질 발현 감소 현상이 Jurkat T 임파구의 세포주기를 억제하여 세포사멸을 유도하는 것으로 볼 수 있다. 정상세포에서 대부분의 CDK들은 cyclin, proliferating cell nuclear antigen (PCNA), p21 WAF1과 4중 복합체를 형성하여 RB 단백질의 인산화에 관여한다. 합환피 추출물을 위와 동일한 조건하에서 처리한 후 Jurkat 세포에서의 CDK4 단백질 발현수준을 조사해 본 결과 처리 농도가 높으면 높을수록 CDK4 단백질 발현수준이 감소하는 것을 보여주었다(Fig. 3). 이 단백질의 양적 감소가 CDK4의 활성을 감소시키는 또 다른 기전으로 여겨진다. 이상의 결과에서 합환피 추출물이 Jurkat 세포의 사멸을 촉진시키는 작용은 cyclin D와 CDK4 단백질의 양적 감소가 cyclin-CDK 복합체 형성을 억제시킴으로써 세포주기를 원활히 조절하지 못하여 일어남을 알 수 있다.

RB 단백질은 세포주기의 G1기에서 전사인자인 E2F1과 결합하여 이를 억제하고 있으며, cyclin-CDK 복합체에 의해 RB가 과인산화되면 불활성화되어져 RB의 G1 정지 기능은 상실되어 진다. 그리고 RB가 억제하고 있던 E2F1을 유리시키고, 활성화된 E2F1은 S기에서 DNA 복제에 필요한 여러 유전자들을 합성함으로써 세포주기는 G1기에서 S기로 진행하게 된다.²⁷⁾ 이처럼 세포주기 조절에 관련된 중요한 역할을 수행하는 이들 유전자들의 변화를 살펴보기 위하여 합환피 추출물의 농도를 5, 10, 20, 30 및 40 µg/ml로 증가시키면서 Jurkat 세포들의 배양배지에 24시간 동안 처리하였다. 그 결과 5 µg/ml의 저농도에서 과인산화된 RB 단

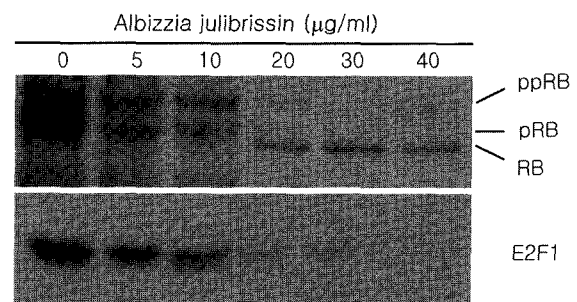


Fig. 4. Increase of RB dephosphorylation and decrease of E2F1 protein level during apoptosis induced by *A. julibrissin* in Jurkat cells. Cells were incubated for 24 h at 37°C with the 5, 10, 20, 30, and 40 µg/ml of *A. julibrissin*. Whole cell lysates were prepared using EBC lysis buffer. The samples were resolved on a 7.5% (RB) and 10% (E2F1) SDS-PAGE gel, transferred to a nitrocellulose membrane, and the blots were probed for RB or E2F1.

백질 발현 수준은 대조군에 비해서 다소 감소하였으며, 추출물의 처리 농도가 높을수록 단백질 발현의 감소비율이 점점 증가함을 볼 수 있었다(Fig. 4). 또한 RB 단백질의 인산화 정도도 합환피의 처리 농도에 의존하여 줄어들고 30 µg/ml 이상의 농도에서는 dephosphorylated된 RB의 형태가 현저하게 증가함을 알 수 있었다(Fig. 4). 이는 cyclin D와 CDK의 발현 감소로 인해 결과적으로 CDK4의 RB 인산화 기능이 감소되어 저인산화 RB의 발현이 증가된 것으로 생각된다. 동일한 조건하에서 E2F1의 단백질 발현 수준을 Western blot으로 조사한 결과, 5 µg/ml의 저농도에서는 대조군에 비하여 단백질 발현이 거의 감소되지 않았으나, 그 이후의 처리 농도에서는 합환피의 처리 농도에 의존적으로 단백질 발현이 점점 감소하는 현상이 나타났다(Fig. 4). 이러한 결과는 RB 단백질의 dephosphorylation 경향과 매우 유사함을 보여 주었다. 즉 저인산화된 RB의 증가와 E2F1 단백질의 감소는 세포주기 조절과 관련된 유전자들을 자유롭게 전사조절하지 못하게 되므로 세포주기 이탈에 깊이 관여하는 것으로 사료된다.

한의학에서도 최근 세포생물학적, 분자생물학적인 방법으로 한약재 및 복합처방들을 대상으로 그 유효성과 치료의 기전을 증명하는 실험들이 시행되고 있다. 이는 한의학의 우수성을 과학적으로 검증하는 매우 유익한 일이라 사료된다. 본 연구도 한약재의 일종인 합환피가 혈액암인 백혈병을 치료하는데 천연물질로서의 개발 가능성이 있는지를 검증하기 위하여 세포주기 신호기전을 중심으로 실험을 통하여 알아보았다. 또한 세포사멸이 진행되는 경우 세포주기 조절 기능 이외의 역할을 배제할 수 없기 때문에 앞으로 더 많은 다른 신호기전의 중요성을 자세히 연구할 필요가 있다고 생각한다.

결 론

합환피는 자귀나무의 수피를 건조한 것으로서 한방에서는 불면증, 강장, 흥분, 이뇨, 진통, 구충제로 널리 사용되어 왔다. 본 연구는 한약재의 일종인 합환피 물 추출물이 혈액암인 백혈병을 치료하는데 천연물질로서의 이용 가능성이 있는지 검증하기 위하여 세포주기 신호기전을 중심으로 실험하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 급성 림프성백혈병 세포주인 Jurkat 세포에 합환피 물 추출물을 처리하면 농도에 의존적으로 apoptosis를 일으키는 세포 수가 증가하는 현상이 현미경적인 관찰에 의해 밝혀졌으며, caspase-3의 주요 기질로 알려진 beta-catenin의 단백질 분해패턴이 apoptosis가 진행되는 세포에서의 경향과 매우 잘 일치하는 점으로 보아 합환피는 Jurkat 세포의 사멸에 영향을 주는 것이 확

인되었다. 그 기전을 조사하기 위하여 세포주기의 G1 checkpoint 관련 유전자들의 변화를 조사해 본 결과 합환피 처리 후 cyclin D3와 CDK4 단백질 발현수준이 현저하게 감소되었으며, RB 단백질의 저인산화 현상이 증가하였고 전사인자인 E2F1의 단백질 발현수준이 감소되었다. 이런 결과는 세포주기 진행을 위해 필수적인 유전자들을 전사조절하지 못하게 되므로 결국 세포주기 이탈에 깊이 관여하는 것으로 사료된다. 그러므로 합환피는 Jurkat 세포의 사멸을 유도하며 관련 신호기전이 더욱 밝혀진다면 chemopreventive agent로서의 개발 가능성이 매우 높은 것으로 생각된다.

감사의 말씀

본 연구는 2001년도 보건복지부 한방치료기술연구개발사업(PJ9-PG1-01CO04-0002)과 한국과학재단 지정 전북도청 지원의 원광대학교 의약자원연구센터(MRRC) 연구지원비에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다. 본 연구에 사용된 시료의 동정을 맡아 주신 원광대학교 한의과대학 본 초학교실 송 호준교수님께 감사드립니다.

인용문헌

1. 대한의학협회 분과학회(1992) 암의 진단과 치료. 여문각, 서울.
2. 최승훈(1995) 東醫腫瘍學. 杏林出版社, pp. 32-34, 서울.
3. 대한병리학회(1990) 病理學. 高文社, p. 225, 서울.
4. Ruddon, R. W.(1990) Chemical carcinogenesis. In principles of drug action (3rd.), Churchill Livingstone, p.735.
5. 문구, 정병학, 김병주(1999) 암 동서의 결합치료. 원광대학교출판국, pp. 745-767, 익산.
6. 황상구, 이형철, 김춘관, 김대근, 송호준, 박영준, 김원신, 전병훈(2001) p53-결핍 Jurkat T 임파구의 세포사멸에 대한 계열등 물 추출물의 세포주기 억제효과. 동의생리병리학회지 15: 887-892.
7. 김동희, 김성훈(1999) 가미지황탕, 가미사군자탕 및 가미군자지황탕의 항종양활성. 대전대학교 한의학연구소 논문집 8: 131-146.
8. 이봉우(1994) 防毒湯의 항종양효과와 면역반응에 관한 실험적 연구. 대한한학회지 15: 245-263.
9. 전국분자생물학교수(2000) 세포학. 한우리, pp599-636, 서울.
10. Pardee, A. B. (1989) G1 events and regulation of cell proliferation. *Science* 246: 603-608.
11. Ohtsubo, M., and Roberts, J. M. (1993) Cyclin-dependent regulation of G1 in mammalian fibroblasts. *Science* 259: 1908-1912.
12. Nevins, J. R. (1992) E2F: a link between the Rb tumor

- suppressor protein and viral oncoproteins. *Science* **258**: 424-429.
13. Sherr, C. J. (1994) The ins and outs of Rb: coupling gene expression to the cell cycle clock. *Trends Cell Biol.* **4**: 15-18.
 14. Marx, J. (1994) How cells cycle toward cancer. *Science* **263**: 319-321.
 15. Tang, W., and Eisenbrand, G. (1992) Chinese drugs of plant origin. Springer-Verlag, New York.
 16. Kaneta, M., Hikichi, H., Endo, S., and Sugiyama, N. (1980) Identification of flavones in sixteen Leguminosae species. *Agric. Biol. Chem.* **44**: 1407-1512.
 17. Chamsuksai, P., Choi, J. S., and Woo, W. S. (1981) 3',4',7-trihydroxyflavone in *Albizia julibrissin*. *Arch. Pharm. Res.* **4**: 129-133.
 18. Woo, W. S., and Kang, S. S. (1984) Isolation of a new monoterpene conjugated triterpenoid from the stem bark of *Albizia julibrissin*. *J. Nat. Prod.* **47**: 547-549.
 19. Chen, S. P., and Zhang, R. Y. (1997) Studies on the triterpene sapogenine from *Albizia Cortex*. *Acta Pharm. Sin.* **32**: 144-147.
 20. Chen, S. P., Zhang, R. Y., Ma, L. B., and Tu, G. Z. (1997) Structure determination of three saponins from the stem bark of *Albizia julibrissin* Durazz. *Acta Pharm. Sin.* **32**: 110-115.
 21. Kinjo, J., Fukui, K., Higuchi, H., and Nohara, T. (1991) The first isolation of lignan tri- and tetra-glycosides. *Chem. Pharm. Bull.* **39**: 1623-1625.
 22. 황상구, 이형철, 김춘관, 김용익, 주성민, 김원신, 전병훈 (2001) 백혈병세포주 Jurkat T 세포에서 함환피(*Albizia julibrissin*) 물 추출물의 아포토시스 유도 효과. *약학회지* **45**: 730-738.
 23. Vaux, D. L. (1993) Toward an understanding of the molecular mechanisms of physiological cell death. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**: 786-789.
 24. Wyllie, A. H. (1992) Apoptosis and the regulation of cell numbers in normal and neoplastic tissues: an overview. *Cancer Meta. Rev.* **11**: 95-103.
 25. Hwang, S.-G., Park, J. U., Lee, H. C., Joo, W. H., Cho, Y.-K., Moon, J.-Y. (2000) Proteolysis of beta-catenin in apoptotic Jurkat cells. *J. Life Sci.* **10**: 57-63.
 26. Hunter, T., and Pines, J. (1994) Cyclins and cancer II: cyclin D and CDK inhibitors come of age. *Cell* **79**: 573-582.
 27. Weinberg, R. A. (1995) The retinoblastoma protein and cell cycle control. *Cell* **81**: 323-330.

(2002년 1월 15일 접수)