

蜈蚣 藥鍼液이 LPS로 처리된 RAW 細胞柱의 遺傳子 發顯에 미치는 影響

배은희¹ · 이경민¹ · 이봉효¹ · 임성철¹ · 정태영 · 서정철¹

¹대구한의대학교 한의과대학 침구경혈학교실

Microarray analysis of gene expression in raw cells treated with scolopendrae corpus herbal-acupuncture solution

Eun-Hee Bae¹, Kyung-Min Lee¹, Bong-Hyo Lee¹, Seong-Chul Lim¹, Tae-Young Jung¹, Jung-Chul Seo¹

¹Dept. of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University

Abstract

Objectives : Scolopendrae Corpus has a broad array of clinical applications in Korean medicine, including treatment of inflammatory conditions such as arthritis. To explore the global gene expression profiles in human Raw cell lines treated with Scolopendrae Corpus herbal-acupuncture solution (SCHAS), cDNA microarray analysis was performed.

Methods : The Raw 264.7 cells were treated with lipopolysaccharide (LPS), SCHAS, or both. The primary data was normalized by the total spots of intensity between two groups, and then normalized by the intensity ratio of reference genes such as housekeeping genes in both groups. The expression ratio was converted to log₂ ratio. Normalized spot intensities were calculated into gene expression ratios between the control and treatment groups. Greater than 2 fold changes between two groups were considered to be of significance.

Results : Of the 8 K genes profiled in this study, with a cut-off level of two-fold change in the expression, 20 genes (BCL2-related protein A1, MARCKS-like 1, etc.) were upregulated and 5 genes (activated RNA polymerase II transcription cofactor 4, calcium binding atopy-related autoantigen 1, etc.) downregulated following LPS treatment. 139 genes (kell blood group precursor (McLeod phenotype), ribosomal protein S7, etc.) were upregulated and 42 genes (anterior gradient 2 homolog (xenopus laevis), phosphodiesterase 8B, etc.) were downregulated following SCHAS treatment. And 10 genes (yeast saccharomyces cerevisiae intergenic sequence 4-1, mitogen-activated protein kinase 1, etc.) were upregulated and 8 genes (spermatid perinuclear RNA binding protein, nuclear receptor binding protein 2, etc.) were downregulated following co-stimulation of SCHAS and LPS.

Discussions : It is thought that microarrays will play an ever-growing role in the advance of our understanding of the pharmacological actions of SCHAS in the treatment of arthritis. But further studies are required to concretely prove the effectiveness of SCHAS.

Key words : DNA chip, LPS, scolopendrae corpus herbal-acupuncture

· 교신저자: 서정철, 대구시 수성구 상동 165 대구한의대 부속 대구한방
병원 침구과, Tel. 054-450-7707, Fax. 054-452-2219,

E-mail : acumox@hanmail.net

· 투고: 2006/08/30 · 심사: 2006/09/07 · 채택: 2006/09/11

I. 緒 論

고령화 사회로 발전하면서 만성질환의 중요성이 강조되고 있다. 관절염은 노인들이 가장 많이 호소하고 전체 질환 중 57.8%를 차지하며 주로 외상이나 감염, 대사이상, 면역 및 종양 등 각종 원인에 의하여 疼痛, 腫脹, 強直, 發赤 및 運動障礙가 나타나는 질환이다^{1,2)}.

韓醫學에서 관절염은 痺症, 歷節風, 鶴膝風, 白虎歷節風, 痛風, 痛痺 등의 범주에 속하고²⁾ 藥物療法, 鍼灸療法 및 物理療法 등의 치료법이 사용되고 있으며, 최근에는 新鍼療法인 藥鍼療法이 관절염 치료에 효과가 있음이 보고되고 있다³⁾.

LPS는 동물에 각종의 실험적 자가면역병을 유발하는 물질로, 대식세포를 자극하여 IL-1의 분비를 유발하여 T림프구 感作을 촉진시키고, 염증반응 매개물질인 TNF- α 의 분비를 유발시키며, PGE₂의 생성도 증가시켜서 일과성의 급성 관절염을 유발한다^{4,5)}.

蜈蚣은 절족동물 다족류 중 왕지네과에 속하는 지네로 通絡止痛, 祛風鎮痙, 解毒散結의 효능으로 風濕痺痛, 頑固性 頭痛, 中風, 口眼喎斜, 瘡瘍腫毒 등을 치료하는데 사용되어 왔다⁶⁾. 蜈蚣 藥鍼液의 관절염 치료에 대한 연구로 金 등⁷⁾은 dextran 수용액으로 염증을 유발한 후 부종억제율을 살펴본 결과 유의한 소염작용이 있음을 보고하였고, 김 등⁸⁾은 白鼠의 環跳穴에 蜈蚣 藥鍼液을 시술하여 WBC의 변화를 관찰한 결과 유의한 감소효과를 보고하였다.

최근 遺傳子 發顯 정보를 연구하는 방법으로는 기존의 개별 遺傳子 發顯을 관찰하던 방법에 비해 DNA chip을 이용함으로써 대량의 遺傳子 發顯 정보를 한꺼번에 평가하는 방법이 시도되고 있다⁹⁾. 한의학계에서도 韓 등¹⁰⁾이 cDNA chip을 이용하여 鹿茸 藥鍼液의 遺傳子 發顯 分析을 報告하였으나, cDNA chip을 이용한 蜈蚣 藥鍼液의 遺傳子 發顯 정보는 아직 접하지 못한 실정이다.

이에 저자는 LPS로 염증을 유발시킨 RAW cell에서 蜈蚣 藥鍼液의 염증 치료를 통한 관절염 치료 효과를 규명하고자 cDNA microarray chip을 통해 遺傳子 發顯 정보를 분석하여 유의성있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 材料

1) 藥材

本 實驗에서 사용된 蜈蚣(*Scolopendra subspinipes mutilans*)(충북, 괴산)은 대구한의대학교 부속 대구한방병원 藥劑科에서 300g을 購入하여 법제(頭足を 제거하고 炒⁶⁾)한 후 使用하였다.

2) 細胞柱

本 實驗에 사용한 細胞柱는 RAW 264.7 (KCLB #40071)이며, 한국 세포주 은행에서 구입하였다.

3) 시약

배양액으로서 Dulbecco's modified eagle medium(DMEM), fetal bovine serum(FBS), penicillin-streptomycin은 GibcoBRL(USA)에서, 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide(MTT)는 Roche (Germany)에서 구입하였다.

RNA추출과 reverse transcription, microarray hybridization을 위한 RNazol B는 Tel-Test(USA)를 사용하였다. Superscript II reverse transcriptase 등은 GibcoBRL(USA)에서 구입하였다. Microarray는 8,170개의 Human gene의 cDNA로 구성된 Gene Plover™ Twin-Chip™ Human-8K(Digital-Genomics, Korea)를 사용했으며 (full gene list, URL: http://digital-genomics.co.kr/BBS/View.html?B_id=kor_Gene_list&rowid=1305&Keyword=&searchOption=), hybridization cassette은 Telechem (USA)에서 구입하고 Cy3 혹은 Cy5 RT primer, dNTP mix, Superase-In RNase inhibitor, 3DNA capture reagent 등은 Genisphere (USA)를 사용하였다. 그 외 일반 시약은 Sigma(USA) 제품을 사용하였다.

2. 方法

1) 藥鍼液의 調製

법제한 蜈蚣을 破碎하여 25g의 분말을 500 ml의 蒸溜水에 넣어 실온에서 24시간 동안 교반하였다. 蜈蚣과 혼합된 蒸溜水를 13,000rpm

으로 1시간 동안 원심 분리하여 上淸液 만을 회수하였다. 上淸液을 멸균된 필터기를 사용하여 얻은 다음 -70℃에서 48시간 동안 냉동 건조시켜 10g의 건조된 분말을 얻었다.

2) 세포 배양

실험에 사용한 Raw cell line은 DMEM 용액에 10% FBS를 첨가하여 배양하였다. 5% CO₂, 95% 공기, 37℃ 온도가 유지되는 세포 배양기에서 배양하고, 배양액은 3일마다 교환하였다.

3) MTT 시험

蜈蚣 藥鍼液을 가했을 때 생존하는 세포의 수를 측정하기 위해 살아있는 세포의 mitochondrial dehydrogenase가 기질 MTT를 검푸른 색깔의 formazan으로 변환시키는 작용을 이용한 MTT 시험을 하였다. ELISA reader로 595 nm에서 측정한 흡광도(optical density)의 값은 살아있는 세포의 수를 반영하며 세포 독성의 판정은 다음의 산출식에 따라 % viability로 나타냈다.

$$\% \text{ Viability} = \frac{\text{실험군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

먼저 RAW cell을 96 well plate(Corning, USA)에 well당 배양액 100μl에 5×10⁴개의 세포수가 되도록 serum free 배양액에 분주하고 검액으로서 증류수에 희석한 蜈蚣 藥鍼液을 최종 농도가 0.1, 0.3, 1 및 3mg/ml이 되도록 처치

하여 18시간 incubation하고, vehicle을 처치하지 않은 세포군을 대조군으로 하였다. LPS 100uM로 유해 자극을 주어¹¹⁾ 3시간 incubation하였다. 각 well에 MTT labeling reagent 용액을 10 μ l씩 가하여 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 배양기에서 4시간 동안 배양한 후 solubilization solution을 각 well에 100 μ l씩 첨가하여 배양기에 20시간 유치시키고 ELISA reader(Bio-Tek, USA)로 690nm를 참고치로 하여 595nm에서 측정하였다.

모든 실험값은 mean \pm standard deviation로 하고, 통계학적 분석은 SAS(Statistic Analysis System) program을 이용하였다. Student's t-test를 실시하여 각 군 간의 통계학적 유의성을 검정하였다(α =0.05).

4) RNA 추출

배양된 세포에 유해 자극으로서 1 μ g/ml LPS를 3시간 처치하거나 혹은 대조군으로서 vehicle을 처치하고 RNA를 추출하였다. 아울러 독성시험을 통해 결정한 농도와 시간에 따라 처치군에는 蜈蚣 藥鍼液을 처치하고 대조군에는 vehicle을 처치하여 18시간 경과 후 RNA를 추출하였다.

또한 LPS 자극 후 蜈蚣 藥鍼液 자극 시 發顯이 항진 또는 억제되었던 遺傳子의 관찰을 위해 처치군에는 1 μ g/ml LPS를 3시간 처치한 후 蜈蚣 藥鍼液을 처치하고 대조군에는 1 μ g/ml LPS를 3시간 처치한 후 vehicle을 처치하여 18시간 경과 후 RNA를 추출하였다.

처치군과 대조군 각각에서 세포를 harvest하여 上淸液을 제거하고 다시 세포를 suspension

하였다. 세포 10⁷개당 2ml의 RNAzol을 사용하여 lysis시키고 상온에서 10분간 방치하였다. 0.2ml chloroform을 첨가하여 15초간 흔들어 잘 섞어준 후 5분간 상온에서 방치하였다. 4 $^{\circ}$ C에서 12,000rpm로 15분간 원심분리하고 上淸液을 새로운 tube로 옮겨 동량의 isopropanol을 첨가하고 10분간 상온에서 방치하였다. 4 $^{\circ}$ C에서 12,000rpm로 10분간 원심분리하고 上淸液을 제거한 후 80% 에탄올 1ml을 첨가하여 원심분리하였다. 에탄올을 제거하고 적당량의 DEPC-DDW를 첨가하여 total RNA를 준비하였다.

5) cDNA 준비

Microtube에 1~17 μ l 10~20 μ g의 total RNA와 3 μ l의 RT primer를 넣고 nuclease free water로 최종 20 μ l가 되도록 섞었다. 80 $^{\circ}$ C에서 10분간 incubation 후 얼음에 방치하였다. 이 혼합액에 Superase-In RNase inhibitor 1 μ l를 첨가하였다. 별도의 tube에 5X Superscript II first strand buffer 8 μ l, dNTP mix 2 μ l, 0.1M DTT 4 μ l, Superscript II enzyme 2 μ l(400 units), RNase free water 3 μ l를 혼합하였다. 이 enzyme 혼합액을 RNA가 포함된 상기의 혼합액과 잘 섞어 42 $^{\circ}$ C에서 2시간 반응시켰다. 0.5 M NaOH/50 mM EDTA 7 μ l를 첨가하여 반응을 중지시키고 65 $^{\circ}$ C에 10분 유치시켜 DNA/RNA hybrids를 변성시켰다. 1M Tris-HCl, pH 7.5를 10 μ l 첨가하여 반응을 중화시켰다. 실험군의 cDNA와 대조군의 cDNA 혼합액을 한 tube로 합치고 10mM Tris, pH 8.0 16 μ l로 실험군과 대조군 cDNA의 원래 tube를 세

척한 후 실험군과 대조군 cDNA 혼합액에 넣어 총 130 μ l가 되도록 하였다.

5mg/ml linear acrylamide 3 μ l를 상기한 혼합액에 넣고 5M NaCl 6 μ l 첨가하고 95~100% EtOH 540 μ l 넣고 섞어 -20 $^{\circ}$ C에 30분 방치하였다. 上淸液을 덜어내고 cDNA pellet에 70% EtOH 300 μ l 넣어 섞고 10,000rpm 이상으로 5분 원심분리하여 上淸液을 덜어내고 65 $^{\circ}$ C에 10~30분 방치해 pellet을 말렸다. Nuclease free water를 넣어 10 μ l가 되게 하여 concentrated cDNA를 녹였다.

6) Microarray 시험 protocol

Microarray 시험은 다음의 네 단계로 진행하였다.

첫째, LPS 자극으로 發顯 亢進 또는 抑制된 遺傳子의 관찰

둘째, 蜈蚣 藥鍼液 자극으로 發顯 亢進 또는 抑制된 遺傳子의 관찰

셋째, LPS 자극 후 蜈蚣 藥鍼液 자극 시 發顯 亢進 또는 抑制된 遺傳子의 관찰

넷째, 蜈蚣 藥鍼液 처치 시 LPS 자극으로 發顯이 亢進 또는 抑制되었던 遺傳子의 변화 관찰

7) Microarray Hybridization

2X formamide based buffer를 55 $^{\circ}$ C 10분간 가열을 반복하여 완전히 녹인 것 15 μ l, dT blocker 2 μ l, nuclease free water 3 μ l를 섞고 여기에 위에서 준비한 concentrated cDNA 10

μ l를 넣어 총 30 μ l로 맞추었다. 이 혼합액을 75~80 $^{\circ}$ C 10분, 45~50 $^{\circ}$ C 15~20분간 incubation 하고 pre-warmed(hybridization 온도에서) microarray에 뿌려 coverslip를 덮고 overnight 하여 반응시켰다.

Microarray slide를 55~65 $^{\circ}$ C의 2X SSC, 0.2% SDS로 10~15분 세척하고 2X SSC로 상온에서 세척하고 0.2X SSC에 상온에서 10~15분 세척하고 상온에서 95% EtOH로 씻어 cDNA를 고정시켰다. Microarray slide를 뚜껑이 열린 튜브에 담아 800~1,000rpm으로 2분 원심분리하여 건조시켰다. Microarray 반응은 duplicate로 실시하여 평균값을 구하여 분석하였다.

8) Scanning and Data Analysis

Slide를 stage에 밀어 넣은 후 scan parameter를 기입하고 focus와 laser power를 조정 한 후 red와 green의 파장에서 각각 Scanarray Lite(PerkinElmer Life Science, Billerica, MA)를 이용하여 scanning하고, GenePix Pro 3.0 (Axon Instruments, Union City, CA)을 이용하여 각각의 spot에 대한 data를 저장하였다. Normalization 과정을 거친 후 대조군에 비해 2배 이상 發顯이 亢進되거나 1/2 이하로 發顯이 低下된 경우를 유의한 차이가 있는 것으로 하여¹²⁾ LPS, 蜈蚣 藥鍼液 처치 시 변화를 비교하였다.

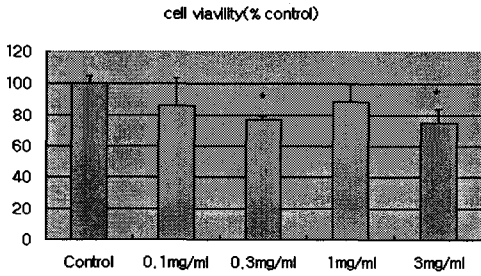


Fig. 1. The viability of human mast cell by MTT cytotoxicity assay. Cell viability(%) after 18 hrs incubation of Scolopendrae Corpus herbal-acupuncture solution(SCHAS) at the respective concentrations. Percent viabilities of the treatment groups were calculated by MTT colorimetric assay compared with that of the control group. Values are given as percent(mean±S.D.). Asterisk(*) indicates statistical difference from the control group. * $p < 0.01$.

Ⅲ. 成 績

1. MTT 시험

蜈蚣 藥鍼液를 처치한 경우蜈蚣의 농도가 0.1, 0.3, 1 및 3mg/ml일 때의 생존율은 vehicle을 처치했을 때의 대조군에 비해 86.07 ± 0.86 , 77.42 ± 0.77 , 88.48 ± 0.88 및 $75.10 \pm 0.75\%$ 였다 (Fig. 1). 0.3 및 3mg/ml 농도에서 대조군에 비해 유의성($p < 0.01$)있는 감소가 있었다. 본 실험에서蜈蚣 藥鍼液의 처치 농도는 3mg/ml으로 결정하였다.

2. Microarray 반응

배양된 세포에 유해 자극으로서 LPS $1 \mu\text{g/ml}$ 로 3시간 처치한 경우와 대조군에서의 mRNA

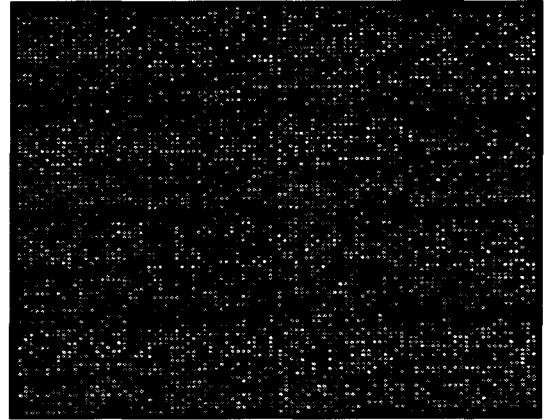


Fig. 2. 80k human cDNA microarray image of gene expression in RAW cells treated with LPS. The green spots represent genes of RAW control labeled with Cy3-captured reagent that is over expressed compared to that of LPS-exposed RAW. The red spots represent genes of LPS-exposed RAW labeled with Cy5-captured reagent that is over expressed compared to that of RAW control.

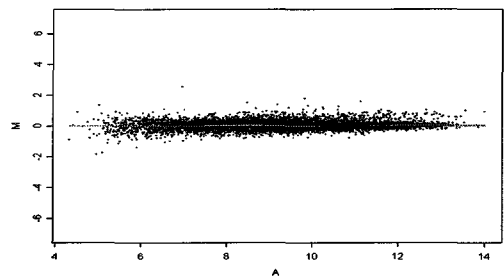


Fig. 3. Scattered plot of the normalization results by global M method in LPS-exposed and control RAW cells.

The primary data was normalized by the total spots of intensity between two groups, and then normalized by the intensity ratio of reference genes such as housekeeping genes in both groups. The expression ratio of LPS-exposed and control RAW cells was converted to \log_2 ratio.

를 추출하여 cDNA microarray에 반응시킨 결과는 Fig. 2와 같다.

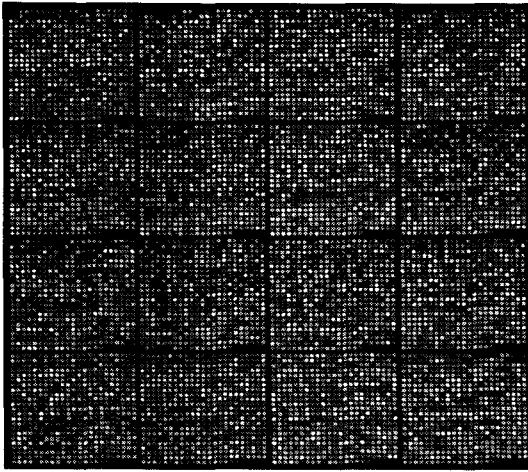


Fig. 4. 80k human cDNA microarray image of gene expression in RAW cells treated with SCHAS.

The green spots represent genes of RAW control labeled with Cy3-captured reagent that is over expressed compared to that of SCHAS treated RAW. The red spots represent genes of SCHAS treated RAW labeled with Cy5-captured reagent that is over expressed compared to that of RAW control. The yellow spots represent genes which showed no difference in expression level between two groups. The yellow spots represent genes which showed no difference in expression level between two groups.

또한 MTT 시험을 통해 결정된 농도인蜈蚣藥鍼液 3mg/ml로 18시간 동안 처치한 경우와 대조군에서의 mRNA를 추출하여 cDNA microarray에 반응시킨 결과는 Fig. 4와 같다.

그리고 유해 자극으로서 LPS 1 μ g/ml을 3시간 처치한 후蜈蚣藥鍼液을 처치한 경우와 LPS 1 μ g/ml을 3시간 처치한 경우를 대조군으로 하여 mRNA를 추출하여 cDNA microarray에 반응시킨 결과는 Fig. 6과 같다.

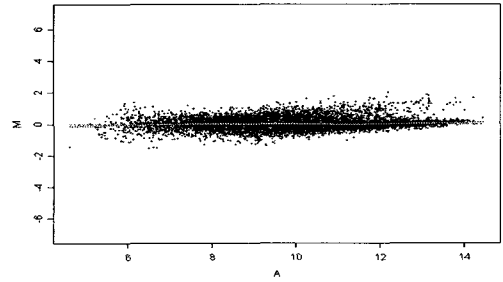


Fig. 5. Scattered plot of the normalization results by global M method in SCHAS treated and control RAW cells.

The primary data was normalized by the total spots of intensity between two groups, and then normalized by the intensity ratio of reference genes such as housekeeping genes in both groups. The expression ratio of SCHAS treated and control RAW cells was converted to \log_2 ratio.

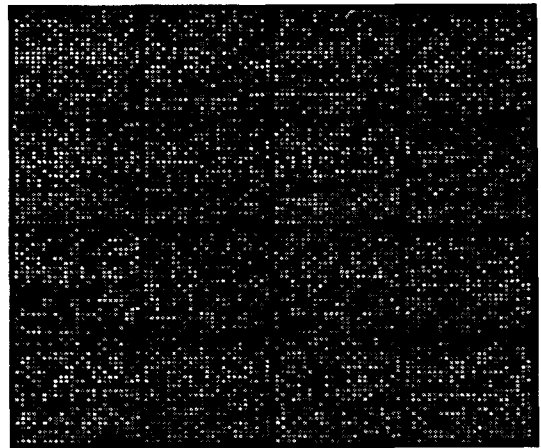


Fig. 6. 80k human cDNA microarray image of gene expression in RAW cells treated with SCHAS following exposure to LPS.

The green spots represent genes of LPS-exposed RAW labeled with Cy3-captured reagent that is over expressed compared to that of LPS-exposed following SCHAS RAW. The red spots represent genes of LPS-exposed following SCHAS RAW labeled with Cy5-captured reagent that is over expressed compared to that of LPS-exposed RAW control. The yellow spots represent genes which showed no difference in expression level between two groups.

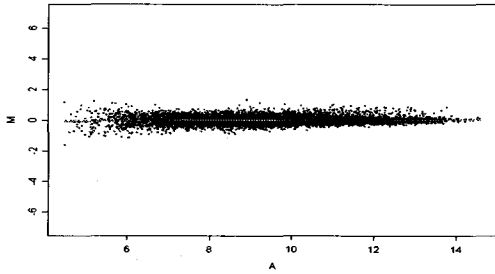


Fig. 7. Scattered plot of the normalization results by global M method in SCHAS treatment following exposure to LPS and LPS-exposed RAW cells.

The primary data was normalized by the total spots of intensity between two groups, and then normalized by the intensity ratio of reference genes such as housekeeping genes in both groups. The expression ratio of LPS following SCHAS treated and LPS-exposed RAW cells was converted to log₂ ratio.

그 결과 red spot으로 發顯이 亢進된 遺傳子 와 green spot으로 發顯이 低下된 遺傳子가 다양하게 나타났다. 각 cDNA spot intensity는 normalization 과정을 거쳐 log₂ ratio 값으로 계산되었다(Fig. 3, 5, 7). 그 결과 2배 이상으로 發顯이 亢進된 遺傳子와 2배 이하로 發顯이 抑制된 遺傳子를 구분할 수 있었다.

3. LPS 자극 시 發顯이 亢進된 遺傳子

유해자극으로서 1μg/ml LPS를 3시간 처치했을 때 vehicle을 처치한 대조군에 비해 發顯이 亢進된 遺傳子는 BCL2-related protein A1, MARCKS-like 1, matrix metalloproteinase

Table 1. List of genes up-regulated by exposure to LPS.

Title	Gene Symbol	GenBank ACC	M
Phosphonoformate immuno-associated protein 5	PFAAP5	U50536	1.012492
CHK1 checkpoint homolog (S. pombe)	CHEK1	AF016582	1.031952
Caspase 4, apoptosis-related cysteine protease	CASP4	U25804	1.035435
Sarcoglycan, epsilon	SGCE	AF036364	1.047839
Eukaryotic translation initiation factor 4A, isoform 1	EIF4A1	U79273	1.085123
Nucleoside phosphorylase	NP	AA311617	1.085463
Interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 3	IFIT3	AF083470	1.126773
Similar to CG3714 gene product	PP3856	AA464988	1.172718
Cathepsin S	CTSS	M90696	1.180492
Cerebral cavernous malformations 1	CCM1	AA994709	1.214346
Interleukin 3 receptor, alpha (low affinity)	IL3RA	A1765858	1.234336
Interleukin 10	IL10	M57627	1.234965
Chemokine (C-C motif) ligand 18 (pulmonary and activation-regulated)	CCL18	Y13710	1.244849
Superoxide dismutase 2, mitochondrial	SOD2	Y00472	1.290413
CD44 antigen (homing function and Indian blood group system)	CD44	BC004372	1.355068
BCL2-related protein A1	BCL2A1	U29680	1.553
MARCKS-like 1	MARCKSL1	A1341990	1.567051
Matrix metalloproteinase 13 (collagenase 3)	MMP13	X75308	2.671469

Gene expression was profiled with TwinChipe (Digital Genomics) microarray. A cut-off level of 2-fold change was used.

蜈蚣 藥鍼液이 LPS로 처리된 RAW 細胞柱의 遺傳子 發顯에 미치는 影響

Table 2. List of genes down-regulated by exposure to LPS.

Title	Gene Symbol	GenBank ACC	M
Activated RNA polymerase II transcription cofactor 4	PC4	AA477295	-1.62489
Calcium binding atopy-related autoantigen 1	CBARA1	AA227367	-1.54562
Glycosyltransferase 8 domain containing 1	GLT8D1	AI800723	-1.18454
Ribosomal protein L4	RPL4	AB001872	-1.01075
CAMP responsive element binding protein 3-like 4	CREB3L4	AI928081	-1.00887

Gene expression was profiled with TwinChipe (Digital Genomics) microarray. A cut-off level of 2-fold change was used.

13(collagenase 3) 등으로 20종이 있었다(Table 1).

4. LPS 자극 시 發顯이 抑制된 遺傳子

유해자극으로서 1 μ g/ml LPS를 3시간 처치했을 때 vehicle을 처치한 대조군에 비해 發顯이 抑制된 遺傳子는 activated RNA polymerase II transcription cofactor 4, calcium binding atopy-related autoantigen 1, glycosyltransferase 8 domain containing 1 등으로 5종이 있었다(Table 2).

5. 蜈蚣 藥鍼液 처치 시 發顯이 亢進된 遺傳子

蜈蚣 藥鍼液을 18시간 처치했을 때 vehicle을 처치한 대조군에 비해 發顯이 亢進된 遺傳子는 kall blood group precursor(McLeod phenotype), ribosomal protein S7, ribosomal protein S14, ferritin, heavy polypeptide 1, ribosomal protein L11, eukaryotic translation initiation factor 4A, isoform 1, mitochondrial ribosomal protein L3, Similar to CG3714 gene product, ribosomal protein S10, transforming growth factor, beta-induced, 68kDa, splicing factor 3b, subunit 4, 49kDa, ribosomal protein L17, ribosomal protein L19, ribosomal protein L37 등으로 139종이 있었다(Table 3).

Table 3. List of genes up-regulated by treatment of SCHAS.

Title	Gene Symbol	GenBank ACC	M
Eukaryotic translation initiation factor 3, subunit 2 beta, 36kDa	EIF3S2	AA306891	1.000218
Eukaryotic translation initiation factor 2, subunit 1 alpha, 35kDa	EIF2S1	AA306546	1.001967
Ubiquitin-conjugating enzyme E2D 2 (UBC4/5 homolog, yeast)	UBE2D2	AI553806	1.008677

Title	Gene Symbol	GenBank ACC	M
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein F	HNRPF	L28010	1.020787
Asparagine synthetase	ASNS	NM_001673	1.021088
Opiate receptor-like 1	OPRL1	U30185	1.022304
RAB8A, member RAS oncogene family	RAB8A	X56741	1.022858
MARCKS-like 1	MARCKSL1	AI341990	1.02475
Ribosomal protein L23	RPL23	AI147195	1.029446
Actin, gamma 1	ACTG1	X04098	1.029716
Solute carrier family 25 (mitochondrial carrier; adenine nucleotide translocator), member 5	SLC25A5	AA314562	1.029969
N-acylsphingosine amidohydrolase (acid ceramidase)-like	AS AHL	R09547	1.03013
Ubiquitin-conjugating enzyme E2S	UBE2S	AI571293	1.031505
LAT1-3TM protein	LAT1-3TM	AA398908	1.031921
Integrin, alpha L (antigen CD11A (p180), lymphocyte function-associated antigen 1; alpha polypeptide)	ITGAL	NM_002209	1.032493
Proteoglycan 1, secretory granule	PRG1	J03223	1.034457
Myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia 2	MLL2	AF010403	1.039217
Yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i> intergenic sequence 4-1	YEAST4-1	--	1.040174
Macrophage scavenger receptor 1	MSR1	D13264	1.040651
Dedicator of cytokinesis 6	DOCK6	AA534504	1.049085
Myosin regulatory light chain MRCL3	MRCL3	X54304	1.058137
Cholinergic receptor, nicotinic, beta polypeptide 1 (muscle)	CHRN B1	X14830	1.058592
Calmodulin 2 (phosphorylase kinase, delta)	CALM2	D45887	1.058808
PHD finger protein 1	PHF1	NM_024165	1.064753
Signal-induced proliferation-associated 1 like 1	SIPA1L1	AB007900	1.064887
LIM domain binding 3	LDB3	AA425362	1.065006
Arylsulfatase B	ARSB	M32373	1.068797
Solute carrier family 25 (mitochondrial carrier; peroxisomal membrane protein, 34kDa), member 17	SLC25A17	NM_006358	1.070901
Polymerase (RNA) I polypeptide A, 194kDa	POLR1A	AA148085	1.078116
Eukaryotic translation initiation factor 3, subunit 3 gamma, 40kDa	EIF3S3	AA313584	1.089359
Chemokine (C-X-C motif) ligand 16	CXCL16	AA569970	1.093287
Eukaryotic translation elongation factor 1 beta 2	EEF1B2	X60489	1.096788
Neogenin homolog 1 (chicken)	NEO1	U61262	1.098266
Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 22 (lymphoid)	PTPN22	AA401425	1.101625
Protein kinase C, epsilon	PRKCE	X65293	1.104728
B-cell CLL/lymphoma 9	BCL9	Y13620	1.106676
RUN and SH3 domain containing 2	RUSC2	AB002373	1.106693
Inactivation escape 1	INE1	Y10696	1.110762

蜈蚣 藥鍼液이 LPS로 처리된 RAW 細胞柱의 遺傳子 發顯에 미치는 影響

Title	Gene Symbol	GenBank ACC	M
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1	HNRPA1	AL036280	1.112674
Yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i> intergenic sequence 4-1	YEAST4-1	--	1.112845
Signal peptidase complex subunit 2 homolog (<i>S. cerevisiae</i>)	SPCS2	AL047241	1.120924
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K	HNRPK	S74678	1.129127
CD84 antigen (leukocyte antigen)	CD84	AJ223324	1.1354
Protein phosphatase 2C, magnesium-dependent, catalytic subunit	PPM2C	AI262149	1.138253
PHD finger protein 15	PHF15	D87076	1.138906
Cullin 5	CUL5	AF017061	1.139413
Ribosomal protein S23	RPS23	D14530	1.141069
Bile acid Coenzyme A: amino acid N-acyltransferase (glycine N-choloyltransferase)	BAAT	L34081	1.152313
Transforming growth factor, beta receptor I (activin A receptor type II-like kinase, 53kDa)	TGFBR1	L11695	1.153406
Insulin-like growth factor 2 (somatomedin A)	IGF2	X00910	1.157161
Rhotekin	RTKN	AA582951	1.160517
Granzyme A (granzyme 1, cytotoxic T-lymphocyte-associated serine esterase 3)	GZMA	NM_006144	1.163532
Ribosomal protein S3A	RPS3A	M77234	1.165092
Transformer-2 alpha	TRA2A	H69291	1.166059
Ribosomal protein S20	RPS20	AL037652	1.168442
Polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide E, 25kDa	POLR2E	D38251	1.168905
Glutathione peroxidase 4 (phospholipid hydroperoxidase)	GPX4	X71973	1.175211
Peptidyl-prolyl isomerase G (cyclophilin G)	PPIG	AA954914	1.182365
ATP synthase, H ⁺ transporting, mitochondrial F1 complex, gamma polypeptide 1	ATP5C1	D16563	1.18521
CDNA: FLJ22803 fis, clone KAIA2685	--	R92545	1.186948
H3 histone, family 3B (H3.3B)	H3F3A	AA313375	1.186999
Centromere protein B, 80kDa	CENPB	X05299	1.188208
Phosphodiesterase 4D interacting protein (myomegalin)	PDE4DIP	AB007946	1.18838
Ribosomal protein S4, X-linked	RPS4X	M58458	1.189819
Transcribed locus, strongly similar to XP_520590.1 similar to hypothetical protein FLJ30435 [Pan troglodytes]	--	AI436356	1.1931
Heat shock 70kDa protein 4	HSPA4	AB023420	1.193255
Nucleolin	NCL	NM_005381	1.195528
Septin 7	07-Sep	S72008	1.19679
High-mobility group box 1	HMGB1	X12597	1.197504
Poly(rC) binding protein 2	PCBP2	AA375284	1.199228
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U (scaffold attachment factor A)	HNRPU	X65488	1.208058
UDP glycosyltransferase 2 family, polypeptide B11	UGT2B11	AF016492	1.210998

Title	Symbol	GeneBank	M
Kinesin family member 22	KIF22	AB017430	1.215704
Ribosomal protein S29	RPS29	AA715449	1.215962
Ribosomal protein L14	RPL14	D87735	1.216177
Ribosomal protein S12	RPS12	AA314429	1.217626
KIAA0404 protein	KIAA0404	AB007864	1.219406
Katanin p80 (WD repeat containing) subunit B 1	KATNB1	AF052432	1.219971
Exportin 7	XPO7	AB018288	1.222963
Ubiquitin A-52 residue ribosomal protein fusion product 1	UBA52	AA522790	1.22582
Butyrophilin, subfamily 3, member A2	BTN3A2	AI811836	1.230569
BCL2-related protein A1	BCL2A1	U29680	1.230937
Ribosomal protein S3	RPS3	AA593872	1.237763
Eukaryotic translation initiation factor 4A, isoform 2	EIF4A2	AL117412	1.241423
WD repeat domain 20	WDR20	AI092930	1.253314
Sodium channel, voltage-gated, type IX, alpha	SCN9A	X82835	1.257456
Histone 2, H2be	HIST2H2BE	NM_003528	1.265686
Ribosomal protein L6	RPL6	AI888138	1.265883
Tripartite motif-containing 50B	MGC45477	AI082153	1.268093
Methyl-CpG binding domain protein 4	MBD4	AI634868	1.273322
Swainsonin (mammalian) proteinase inhibitor, clade B	SERPINB13	X98307	1.275092
Tumor protein, translationally-controlled 1	TPT1	AI979107	1.280992
Spectrin, beta, non-erythrocytic 1	SPTBN1	AW028717	1.286037
Nucleophosmin (nucleolar phosphoprotein B23, numatrin)	NPM1	AA173870	1.287989
Ribosomal protein L23a	RPL23A	AA857067	1.28854
Polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide D	POLR2D	AA582562	1.291452
Cathepsin S	CTSS	M90696	1.294798
X 006 protein	MDS006	AI016298	1.300528
Interleukin 3 receptor, alpha (low affinity)	IL3RA	AI765858	1.30686
Glucose regulated protein, 58kDa	GRP58	Z49835	1.311145
Interleukin 10	IL10	M57627	1.313184
Phosphonofomate immuno-associated protein 5	PFAAP5	U50536	1.317846
Cardiomyopathy associated 5	CMYA5	AA931319	1.318523
Splicing factor protein (acid) rich (polypyrimidine tract	SFPQ	X70944	1.326752
Ring finger protein 10	RNF10	D87451	1.336803
Ribosomal protein L35	RPL35	AI815757	1.337794
Heat shock 70kDa protein 8	HSPA8	AL044172	1.337898
DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 5	DDX5	X15729	1.347094

蜈蚣 藥鍼液이 LPS로 처리된 RAW 細胞柱의 遺傳子 發顯에 미치는 影響

Title	Gene Symbol	GenBank ACC	M
KIAA1404 protein	KIAA1404	AI336993	1.35059
Adenylate cyclase 9	ADCY9	AI248827	1.351088
Clone 24739 mRNA sequence	--	AF070571	1.362848
Neurogranin (protein kinase C substrate, RC3)	NRGN	AI288510	1.365228
Myotubularin related protein 3	MTMR3	AB002369	1.372109
Acetyl-Coenzyme A acetyltransferase 1 (acetoacetyl Coenzyme A thiolase)	ACAT1	D90228	1.375444
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1	HNRPA2B1	NM_031243	1.394077
Lymphoid nuclear protein related to AF4	LAF4	AL538354	1.402629
Ribosomal protein L10a	RPL10A	NM_007104	1.410423
Similar to bK246H3.1 (immunoglobulin lambda-like polypeptide 1, pre-B-cell specific)	LOC91316	AI278613	1.412815
Ribosomal protein, large, P0	RPLP0	AI929696	1.418743
Ribosomal protein L12	RPL12	L06505	1.438945
Coproporphyrinogen oxidase	CPOX	Z28409	1.443858
CHK1 checkpoint homolog (S. pombe)	CHEK1	AF016582	1.444108
Nuclease sensitive element binding protein 1	NSEP1	BC015208	1.46748
Ribosomal protein L7a	RPL7A	AI625430	1.470089
Ribosomal protein L28	RPL28	AI754765	1.495684
Kell blood group precursor (McLeod phenotype)	XK	Z32684	1.52612
Ribosomal protein S7	RPS7	AA315981	1.542001
Ribosomal protein S14	RPS14	AI928982	1.565526
Ferritin, heavy polypeptide 1	FTH1	AA102267	1.580233
Ribosomal protein L11	RPL11	L05092	1.583502
Eukaryotic translation initiation factor 4A, isoform 1	EIF4A1	U79273	1.596825
Mitochondrial ribosomal protein L3	MRPL3	X06323	1.676332
Similar to CG3714 gene product	PP3856	AA464988	1.68163
Ribosomal protein S10	RPS10	AI066801	1.684498
Transforming growth factor, beta-induced, 68kDa	TGFBI	NM_000358	1.695159
Splicing factor 3b, subunit 4, 49kDa	SF3B4	NM_005850	1.715696
Ribosomal protein L17	RPL17	X53777	1.73757
Ribosomal protein L19	RPL19	AI928941	1.794155
Ribosomal protein L37	RPL37	AI879226	1.861164

Gene expression was profiled with TwinChipe (Digital Genomics) microarray. A cut-off level of 2-foldchange was used.

Table 4. List of genes down-regulated by treatment of SCHAS.

Title	Gene Symbol	GenBank ACC	M
Anterior gradient 2 homolog (Xenopus laevis)	AGR2	AI800451	-1.63794
Phosphodiesterase 8B	PDE8B	AF079529	-1.56358
AT rich interactive domain 5A (MRF1-like)	ARID5A	AI499103	-1.39696
Dachshund homolog 1 (Drosophila)	DACH1	AJ005670	-1.3828
Core-binding factor, runt domain, alpha subunit 2; anslocated to, 2	CBFA2T2	W35287	-1.36537
DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily C, member 6	DNAJC6	AI753668	-1.32354
Yeast Saccharomyces cerevisiae intergenic sequence 9-1	YEAST9-1	--	-1.30246
Yeast Saccharomyces cerevisiae intergenic sequence 9-1	YEAST9-1	--	-1.29922
Solute carrier family 4, sodium bicarbonate cotransporter, member 4	SLC4A4	AF007216	-1.27479
Olfactomedin 4	OLFM4	AI923293	-1.2504
Radixin	RDX	N20592	-1.24815
Hypothetical protein MGC39325	MGC39325	AA758701	-1.23899
Glucuronidase, beta	GUSB	AI436391	-1.23309
F-box protein 7	FBXO7	AI360050	-1.21932
Nuclear receptor subfamily 3, group C, member 2	NR3C2	M16801	-1.2113
Histatin 3	HTN3	M26665	-1.18675
SUMO1/sentrin specific protease 7	SEN7	AI825949	-1.17857
Profilin 2	PFN2	AI857272	-1.17294
Topoisomerase (DNA) I	TOP1	AA703048	-1.16529
Peroxisomal biogenesis factor 3	PEX3	AI332675	-1.15458
Coagulation factor II (thrombin) receptor-like 1	F2RL1	BC018130	-1.1431
KIAA0650 protein	KIAA0650	AB014550	-1.14015
Zinc finger DAZ interacting protein 3	DZIP3	AA282528	-1.1384
Meningioma expressed antigen 5 (hyaluronidase)	MGEA5	AI352039	-1.13417
Protein tyrosine phosphatase, receptor type, K	PTPRK	Z70660	-1.13119
Protein tyrosine phosphatase, receptor type, M	PTPRM	AI129730	-1.11795
Calponin 3, acidic	CNN3	S80562	-1.11316
CDNA: FLJ22642 fis, clone HSI06970	--	AI589855	-1.10913
Solute carrier family 35, member F5	SLC35F5	N25427	-1.07572
Arginase, type II	ARG2	U75667	-1.06283
BMP-binding endothelial regulator precursor protein	BMPEP	AA649871	-1.05669
HIV-1 Rev binding protein	HRB	AA825654	-1.05348
Ankyrin repeat domain 12	ANKRD12	AB020681	-1.04557
Similar to testis-specific protein NYD-TSP1	UNQ6077	AI701145	-1.0437
Dachshund homolog 1 (Drosophila)	DACH1	AI650353	-1.02483
CDNA FLJ35491 fis, clone SMINT2008625, moderately similar to GLYCINE CLEAVAGE SYSTEM H PROTEIN PRECURSOR	--	AI249112	-1.01998
Receptor (calcitonin) activity modifying protein 1	RAMP1	AI951585	-1.01389
Placental growth factor, vascular endothelial growth factor-related protein	PGF	AI004656	-1.01149
Nuclear receptor subfamily 2, group F, member 6	NR2F6	AI910998	-1.00862
Carboxypeptidase E	CPE	X51405	-1.00449
Zinc fingers and homeoboxes 3	ZHX3	AB007855	-1.0042
Hepatic leukemia factor	HLF	M95585	-1.00022

Gene expression was profiled with TwinChipe (Digital Genomics) microarray. A cut-off level of 2-foldchange was used.

Table 5. List of genes up-regulated by exposure to LPS and treatment of SCHAS.

Title	Gene. Symbol	GenBank. ACC	M
Yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i> intergenic sequence 4-1	YEAST4-1	--	1.006994
Adenosine monophosphate deaminase 2 (isoform L)	AMPD2	AK025706	1.023621
MARCKS-like 1	MARCKSL1	AI341990	1.025143
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1	HNRPA2B1	NM_031243	1.060587
Interleukin 10	IL10	M57627	1.116611
Similar to CG3714 gene product	PP3856	AA464988	1.176942
Coagulation factor II (thrombin) receptor-like 1	F2RL1	BC018130	1.178599
Cytochrome P450, family 19, subfamily A, polypeptide 1	CYP19A1	J04127	1.204019
Mitogen-activated protein kinase 1	MAPK1	Z11694	1.309283
Yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i> intergenic sequence 4-1	YEAST4-1	--	1.92846

Gene expression was profiled with TwinChipe (Digital Genomics) microarray. A cut-off level of 2-fold change was used.

6. 蜈蚣 藥鍼液 처치 시 發顯이 抑制된 遺傳子

蜈蚣 藥鍼液을 18시간 처치했을 때 vehicle 을 처치한 대조군에 비해 發顯이 抑制된 遺傳子는 anterior gradient 2 homolog(*xenopus laevis*), phosphodiesterase 8B 등으로 42종이 있었다(Table 4).

7. LPS 자극 후 蜈蚣 藥鍼液 처치 시 發顯이 亢進된 遺傳子

유해자극으로서 1 μ g/ml LPS를 3시간 처치 후 蜈蚣 藥鍼液을 18시간 처치했을 때 vehicle 을 처치한 대조군에 비해 發顯이 亢進된 遺傳子는 yeast *saccharomyces cerevisiae* intergenic sequence 4-1, mitogen-activated protein kinase 1, cytochrome P450, family 19, subfa-

mily A, polypeptide 1 등으로 10종이 있었다 (Table 5).

8. LPS 자극 후 蜈蚣 藥鍼液 처치 시 發顯이 抑制된 遺傳子

유해자극으로서 1 μ g/ml LPS를 3시간 처치 후 蜈蚣 藥鍼液을 18시간 처치했을 때 vehicle 을 처치한 대조군에 비해 發顯이 抑制된 遺傳子는 spermatid perinuclear RNA binding protein, nuclear receptor binding protein 2, mahogunin, ring finger 1 등으로 8종이 있었다 (Table 6).

9. LPS 자극 후 蜈蚣 藥鍼液 처치 시, LPS 자극으로 發顯이 亢進되었던 遺傳子の 변화

LPS 자극 후 蜈蚣 藥鍼液 처치 시 遺傳子の

Table 6. List of genes down-regulated by exposure to LPS and treatment of SCHAS.

Title	Gene Symbol	GenBank ACC	M
Spermatid perinuclear RNA binding protein	STRBP	AA808764	-1.4958
Nuclear receptor binding protein 2	NRBP2	AI654590	-1.2312
Mahogunin, ring finger 1	MGRN1	AB011116	-1.16189
RAN binding protein 3	RANBP3	AI741212	-1.13375
CAMP responsive element binding protein 3-like 4	CREB3L4	AI928081	-1.04231
Nuclear receptor subfamily 3, group C, member 2	NR3C2	M16801	-1.03496
Dynamin 3	DNM3	AI039268	-1.02608
Growth factor receptor-bound protein 14	GRB14	L76687	-1.01098

Gene expression was profiled with TwinChipe (Digital Genomics) microarray. A cut-off level of 2-fold change was used.

Table 7. Changes of up-regulated gene expression following with exposure to LPS when SCHAS was treated.

Title	Gene Symbol	M1*	M2*
Phosphonoformate immuno-associated protein 5	PFAAP5	1.012492	0.737759
CHK1 checkpoint homolog (S. pombe)	CHEK1	1.031952	0.9403
Caspase 4, apoptosis-related cysteine protease	CASP4	1.035435	-0.01816
Sarcoglycan, epsilon	SGCE	1.047839	NA
Eukaryotic translation initiation factor 4A, isoform 1	EIF4A1	1.085123	0.829799
Nucleoside phosphorylase	NP	1.085463	0.326667
Interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 3	IFIT3	1.126773	0.077586
Similar to CG3714 gene product	PP3856	1.172718	1.176942
Cathepsin S	CTSS	1.180492	0.793398
Cerebral cavernous malformations 1	CCM1	1.214346	0.56151
Interleukin 3 receptor, alpha (low affinity)	IL3RA	1.234336	0.623962
Interleukin 10	IL10	1.234965	1.116611
Chemokine (C-C motif) ligand 18 (pulmonary and activation-regulated)	CCL18	1.244849	0.552318
Superoxide dismutase 2, mitochondrial	SOD2	1.290413	0.536225
CD44 antigen (homing function and Indian blood group system)	CD44	1.355068	0.456983
BCL2-related protein A1	BCL2A1	1.553	0.547861
MARCKS-like 1	MARCKSL1	1.567051	1.025143
Matrix metalloproteinase 13 (collagenase 3)	MMP13	2.671469	0.466163

* M1 is global M when raw cells were exposed to LPS and M2 is global M when raw cells were treated with SCHAS after exposure to LPS.

蜈蚣 藥鍼液이 LPS로 처리된 RAW 細胞柱의 遺傳子 發顯에 미치는 影響

Table 8. Changes of down-regulated gene expression following with exposure to LPS when SCHAS was treated.

Title	Gene. Symbol	M1*	M2*
Activated RNA polymerase II transcription cofactor 4	PC4	-1.62489	NA
Calcium binding atopy-related autoantigen 1	CBARA1	-1.54562	NA
Glycosyltransferase 8 domain containing 1	GLT8D1	-1.18454	-0.96284
Ribosomal protein L4	RPL4	-1.01075	NA
CAMP responsive element binding protein 3-like 4	CREB3L4	-1.00887	-1.04231

* M1 is global M when raw cells were exposed to LPS and M2 is global M when raw cells were treated with SCHAS after exposure to LPS.

변화는 LPS 처치 후 發顯이 증가된 BCL2-related protein A1, MARCKS-like 1, matrix metalloproteinase 13(collagenase 3) 등의 遺傳子는 蜈蚣 藥鍼液 처치 후 發顯은 M값이 각각 1.55, 1.56, 2.67에서 0.54, 1.02, 0.46 등으로 크게 감소되었다. 그러나 sarcoglycan, epsilon 遺傳子는 蜈蚣 藥鍼液 처치 후 發顯의 변화 정도가 명확하지 않았다(Table 7).

10. LPS 자극 후 蜈蚣 藥鍼液 처치 시, LPS 자극으로 發顯이 抑制되었던 遺傳子の 변화

LPS 자극 후 蜈蚣 藥鍼液 처치 시 遺傳子の 변화는 LPS 처치 후 發顯이 抑制된 glycosyltransferase 8 domain containing 1, CAMP responsive element binding protein 3-like 4 등의 遺傳子는 蜈蚣 藥鍼液 처치 후 發顯은 M 값이 각각 -1.18, -1.00에서 -0.96, -1.04 등으로 변화되었으나 미미하였다. 한편 activated RNA polymerase II transcription cofactor 4, calcium binding atopy-related autoantigen 1

등의 遺傳子는 蜈蚣 藥鍼液 처치 후 發顯의 변화 정도가 명확하지 않았다(Table 8).

IV. 考 察

蜈蚣은 왕지네과(Scolopendridae)에 속한 동물인 왕지네(*Scolopendra subspinipes mutilans* L.Koch)의 건조체로 性은 溫 有毒하고 味는 辛하고 肝經에 들어가 通絡止痛, 祛風鎮痙, 解毒散結의 효능으로 風濕痺痛, 頑固性 頭痛, 中風, 口眼喎斜, 瘡瘍腫毒 등을 치료하는데 사용되어 왔다⁶⁾.

LPS는 동물에 각종의 실험적 자가면역병을 유발하는 물질로, 대식세포를 자극하여 IL-1의 분비를 유발하여 T림프구 感作을 촉진시키고, 염증반응 매개물질인 TNF- α 의 분비를 유발시키며, PGE₂의 생성도 증가시켜서 일과성의 급성 관절염을 유발할 수 있으며^{4,5)}, 이 등³⁾은 LPS로 관절염을 유발한 白鼠를 이용하여 牛膝 및 蜂毒藥鍼의 細胞性 免疫反應에 대한 효과를 보고한 바 있다.

최근 수많은 遺傳子를 찾고 그 機能을 알아 내는데 종래의 sub-tractive suppressive hybridization(SSH)¹³⁾, representational difference analysis(RDA)¹⁴⁾ 方法들이 있지만 많은 양의 RNA를 必要로 하며 僞陽性率이 높아 수많은 인간의 遺傳子를 비교하는데 한계가 있다¹⁵⁾. 최근 DNA chip 기술의 도입으로써 많은 遺傳子를 한번에 解讀하거나 비교할 수 있게 되었다⁹⁾. 여기에는 두 가지의 대표적인 方法이 있는데, 하나는 1995년 스텐포드 대학에서 개발한 cDNA microarray chip방법이고¹⁶⁾, 다른 하나는 Affymetrix社에서 개발한 oligonucleotide chip方法¹⁷⁾이다. 그 중 cDNA microarray chip을 利用한 遺傳子 發顯의 比較檢索은 두 종류의 서로 다른 組織이나 細胞에서 얻은 RNA를 逆轉寫 시킬 때 각각 다른 빛을 띠는 형광물질을 붙인 염기를 삽입하여 cDNA를 만들고 이와 같이 合成된 두 개의 cDNA를 동량으로 섞어 이미 알려진 cDNA microarray chip에 경쟁적으로 hybridization시키면 發顯이 많이 되는 遺傳子가 가지는 형광 물질의 색깔을 띠게 되어 이것을 레이저 스캐너에 의해 解讀하면 두 群간의 遺傳子 發顯樣相을 어느 정도의 質量的 차이까지도 알 수 있게 되었다¹⁷⁻⁸⁾.

최근 한의학계에서도 한 등¹⁰⁾이 cDNA microarray chip 方法으로 鹿茸 藥鍼液의 골 관련 遺傳子 發顯 정보를 보고한 바 있으나, cDNA chip을 이용한 蜈蚣 藥鍼液의 遺傳子 發顯 정보는 아직 접하지 못한 실정이다.

이에 저자는 LPS로 관절염을 유발시킨

RAW cell에서 蜈蚣 藥鍼液의 관절염 치료효과를 규명하고자 cDNA microarray chip을 통해 遺傳子 發顯 정보를 분석하여 유의성있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

먼저 蜈蚣 藥鍼液을 처치하고 LPS로 유해자극을 가했을 때 생존하는 세포의 수를 측정하기 위해 MTT 시험을 하였다. 蜈蚣 藥鍼液을 18시간 처치하고 세포 생존율을 MTT 시험으로 측정한 결과 蜈蚣 藥鍼液의 농도가 0.1, 0.3, 1 및 3mg/ml일 때의 생존율은 vehicle을 처리했을 때의 대조군에 비해 86.07±0.86, 77.42± 0.77, 88.48±0.88 및 75.10±0.75%였고, 모든 농도에서 대조군에 비해 유의성($p<0.01$)있는 감소가 있었다. 이에 본 실험에서는 蜈蚣 藥鍼液의 처치 농도를 3mg/ml로 결정하였다.

유해자극으로서 1μg/ml LPS를 3시간 처치했을 때 vehicle을 처치한 대조군에 비해 發顯이 亢進된 遺傳子는 BCL2-related protein A1, MARCKS-like 1, matrix metalloproteinase 13 (collagenase 3) 등으로 20종이 있었다.

Matrix metalloproteinases(MMP)는 세포간질 금속단백질 효소로서 굉장히 많은 질병에 관여하는 것으로 알려져 있으며 세포 외 세포간질에 존재하는 단백질을 분해시키는 기능을 가지고 있다. MMPs는 건강한 세포조직의 정상적인 성장을 촉진시키고 병든 세포조직의 건강을 회복시키며 상처를 입은 피부 세포조직을 원상태로 복구시키는 작용에서 중요한 역할을 한다¹⁹⁾. 퇴행성 관절염 조직에서 MMP-13(collagenase-3), MMP-7(matrilysin) 등의 發顯 및

활성이 증가하며 이러한 현상은 IL-1 및 TNF (tumor necrosis factor)와 같은 염증성 cytokine에 의해 유발된다²⁰⁾. 본 실험에서 LPS 처리 시에 MMP-13 遺傳子가 상승하였는데 이는 기존의 보고와 일치한다²¹⁾. 연골세포와 활막세포에서 MMP들은 latent proenzyme으로 합성되어 골관절염 과정 중에 활성화되는데, 따라서 연골조직의 퇴행을 제어하기 위해서는 MMP의 활성을 抑制함으로써 관절의 분해를 抑制하는 저해제의 개발이 관절염 치료에 중요한 목표가 될 수 있다.

For Myristoylated Alanine-Rich C Kinase Substrate(MARCKS)-like 1 protein(MLP)은 MARCKS protein인데 MacMARCKS, MARCKS-related protein라고도 하며 F52로도 알려져 있다. MLP는 protein kinase C(PKC)의 substrate로 생체에 널리 퍼져 있다. 최근에는 MLP이 중추신경계의 발생이나 위의 주세포와 관련있다는 보고가 있으나 아직 자세히 연구되어 있지는 않다²²⁾. 또한 본 실험에서 LPS 처리 시에 MLP 遺傳子가 상승하였는데 좀 더 연구가 필요할 것으로 생각된다.

BCL2-related protein A1은 BCL2A1, BFL1이라고도 불린다. Apoptosis는 생체의 항상성을 유지하는데 중요한 역할을 하는데 BCL2는 세포자살을 抑制하는 遺傳子 중의 하나이다. D'Sa-Eipper는 BCL2A1이 종양억제 단백질로 유도된 apoptosis를 BCL2 family 와 같은 방식으로 抑制한다고 하였다²³⁾. 본 실험에서 LPS 처리 시에 BCL2A1 遺傳子가 상승하였는데 이

는 기존의 보고와 일치한다²⁴⁾.

유해자극으로서 1 μ g/ml LPS를 3시간 처리했을 때 vehicle을 처리한 대조군에 비해 發顯이 抑制된 遺傳子는 activated RNA polymerase II transcription cofactor 4, calcium binding atopyrelated autoantigen 1, glycosyltransferase 8 domain containing 1 등으로 5종이 있었다.

Activated RNA polymerase II transcriptional coactivator 4는 PC4, p15라고도 한다. PC4는 TATA-binding protein(TBP) associated factors(TAFs)와 함께 작용하며 upstream activators와 일반적인 transcription과 상호 작용한다²⁵⁾. 그러나 아직 자세히 연구되어 있지는 않으며 본 실험에서 LPS 처리 시에 PC4 遺傳子가 抑制되었는데 좀 더 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Calcium binding atopy-related autoantigen 1은 CBARA1라고도 한다. Type I allergy는 다른 사람들은 해가 없는 환경인자에 IgE를 형성하는 유전적 질환이다. 아토피 환자의 상피세포에서 cDNA의 發顯을 검색한 결과 Natter 등²⁶⁾은 CBARA1을 동정하게 되었다. 그러나, 아직 자세히 연구되어 있지는 않으며 본 실험에서 LPS 처리 시에 CBARA1 遺傳子가 抑制되었는데 좀 더 연구가 필요할 것으로 생각된다.

蜈蚣 藥鍼液을 18시간 처리했을 때 vehicle을 처리한 대조군에 비해 發顯이 亢進된 遺傳子는 kell blood group precursor(McLeod phenotype), ribosomal protein S7, ribosomal pro-

tein S14, ferritin, heavy polypeptide 1, ribosomal protein L11, eukaryotic translation initiation factor 4A, isoform 1, mitochondrial ribosomal protein L3, similar to CG3714 gene product, ribosomal protein S10, transforming growth factor, beta-induced, 68kDa, splicing factor 3b, subunit 4, 49kDa, ribosomal protein L17, ribosomal protein L19, ribosomal protein L37 등으로 139종이 있었다.

Kell blood group system의 發顯은 Kell과 XK라는 단백질에 의존한다. McLeod phenotype은 kell system antigens의 약화를 특징으로 한다. McLeod syndrome 또는 McLeod phenotype은 근위약, 심병증, 말초신경 손상 등 근신경 이상을 증상으로 하는 유전질환의 하나이다²⁷⁾. 본 실험에서 蜈蚣 藥鍼液 처치 시에 kell blood group precursor 遺傳자가 상승하였는데 좀 더 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Ribosomal protein S7은 ribosome를 구성하는 작은 subunit의 하나이며 16S rRNA-binding protein 의 한 요소이다. Ribosomal protein S7은 30S subunit의 머리 부분의 assembly를 시작하는데 중요한 역할을 하며 tRNA와 cross-link되는 주요 단백질이다²⁸⁾. 본 실험에서 蜈蚣 藥鍼液 처치 시에 ribosomal protein S7 遺傳자가 상승하였는데 좀 더 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Ribosomal protein S14(RPS14)는 ribosome를 구성하는 작은 subunit의 하나인데 흉선, 비장, 유선 등에서 發顯된다. Chinese hamster의

RPS14A cDNA는 인간의 RPS14A와 거의 일치하는 것으로 밝혀졌으며 RPS14A와 RPS14B 두 형태가 존재한다²⁹⁾. 본 실험에서 蜈蚣 藥鍼液 처치 시에 RPS14A 遺傳자가 상승하였는데 좀 더 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Iron 관련 단백질에는 철의 세포 내 수송에 관여하는 transferrin receptor와 철의 세포 내 저장에 관여하는 ferritin 등 두 종류가 있다. 이들은 철의 농도에 따라 조절된다. 또 ferritin은 heavy polypeptide chain과 light polypeptide chain이 있다. X-linked mouse genes 중 ferritin heavy polypeptide는 철 대사와 고환특이적 發顯에 관여하는 것으로 밝혀졌다³⁰⁾. 본 실험에서 蜈蚣 藥鍼液 처치 시에 Ferritin, heavy polypeptide 1 遺傳자가 상승하였는데 좀 더 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Ribosomal Protein L11(RPL11)은 ribosome과 binding하는 elongation factor로써 작용하고, GTP 가수분해와도 그 기능이 관련되어 있는 많은 종에서 상당히 높게 conserved된 protein이다³¹⁾. 본 실험에서 蜈蚣 藥鍼液 처치 시에 RPL11 遺傳자가 상승하였는데 좀 더 연구가 필요할 것으로 생각된다.

세포의 성장과 대사 및 조절은 중요한 부분으로 분자생물학의 큰 부분을 차지한다. Ribosomal protein 중 ribosomal Protein L17 (RPL17)은 작은 subunit ribosomal protein S25와 함께 세포의 amino acid deprivation에 의해 조절된다³²⁾. 본 실험에서 蜈蚣 藥鍼液 처치 시에 RPL17 遺傳자가 상승하였는데 좀 더

연구가 필요할 것으로 생각된다.

포유동물의 ribosome은 4 종류의 RNA species와 약 80개의 단백질로 구성되어 있다. Ribosomal protein L19(RPL19)는 large ribosomal subunit의 하나이다. *Escherichia coli*에서 RPL19는 30S-50S ribosomal subunit interface에 위치하며 aminoacyl-tRNA binding site에서 중요한 역할을 한다³³⁾. Henry 등³⁴⁾의 실험에 의하면 RPL19 mRNA는 유방암 샘플에서 과다하게 發顯되었다. 본 실험에서 蜈蚣 藥鍼液 처치 시에 RL19 遺傳子가 RPL19 遺傳子가 상승하였는데 좀 더 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Barnard 등³⁵⁾은 대장암 cDNA library로부터 human RPL37 cDNA를 분리 동정하였다. Human RPL37 protein은 쥐의 RPL37과 거의 동일하였다. Su 등³⁶⁾은 RPL37이 구조적으로 모든 phases의 세포주기에서 표현되며 특히 최종 분화단계에서 發顯이 된다고 하였다. 본 실험에서 蜈蚣 藥鍼液 처치 시에 RPL37 遺傳子가 상승하였는데 좀 더 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Eukaryotic translation initiation factor-4A family는 EIF4A라고도 하는데 EIF4A1와 EIF4A2로 구성되어 있다. Nielsen 등³⁷⁾은 EIF4A1 cDNAs를 mouse liver에서 cloning하였는데 EIF4A가 untranslated 영역과는 다르다는 것을 밝혀냈다. EIF4A는 mRNA가 40S ribosomal subunit에 결합하는데 필요한 요소이다³⁸⁾. 본 실험에서 蜈蚣 藥鍼液 처치 시에

EIF4A1 遺傳子가 상승하였는데 좀 더 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Ou 등³⁹⁾은 mitochondrial ribosomal protein L3(MRPL3)이 전사인자로서 hepatitis B virus에 감염된 hepatocellular carcinoma(HCC)에서 過發顯된다고 하였다. MRPL3는 또한 인간의 다른 암세포에서도 높은 수준으로 發顯된다는 것이 밝혀졌다. 그러나 Ou 등³⁹⁾은 MRPL3의 過發顯이 세포의 빠른 분화를 의미하지만 oncogenesis와 곧바로 연결되는 것은 아니라고 하였다. 본 실험에서 蜈蚣 藥鍼液 처치 시에 MRPL3 遺傳子가 상승하였는데 좀 더 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Similar to CG3714 gene product는 CG3714 gene product와 유사하여 붙여진 이름인데 CG3714 gene product의 기능부터 자세히 연구되어 있지는 않다. 본 실험에서 蜈蚣 藥鍼液 처치 시에 EIF4A1 遺傳子가 상승하였는데 좀 더 연구가 필요할 것으로 생각된다.

165개의 amino acid로 구성된 human ribosomal protein S10(human RPS10)는 쥐의 RPS10과 2개의 아미노산 차이로 다르다. 또한 단백질은 cysteine residues를 함유하고 있지도 않다. Northern blot 분석을 통해 RPS10는 colorectal cancers 에서 주변의 정상조직에 비해 다양하게 發顯되었으나, 發顯수준과 질병의 중증도와는 상관성이 나타나지 않았다⁴⁰⁾. 본 실험에서 蜈蚣 藥鍼液 처치 시에 EIF4A1 遺傳子가 상승하였는데 좀 더 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Cytokine 중에 TNF와 transforming growth factor- β (TGF- β)가 있는데 이들은 염증과 세포 독성반응을 증개하는데 매우 중요한 역할을 한다. TGF- β -induced, 68kDa는 TGF- β 와 유사한 것으로 밝혀진 68kDa의 단백질이다⁴¹⁾. 기존의 연구에 의하면 LPS를 처치하면 TGF- β 가 증가한다고 하는데⁴²⁾ 본 실험에서는 치료제로서 蜈蚣 藥鍼液 처치 시에 TGF- β -induced, 68kDa 遺傳子가 상승하여 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

RNA polymerase에 의해 만들어진 RNA가닥은 세 가지의 과정을 거침으로서 완전한 mature RNA가 된다. 그 과정은 5' capping, 3' polyadenylation, splicing이다. Splicing은 유전 정보를 담고 있지 않는 부분을 잘라내는 과정이다. 고등동물일수록 엄청나게 핵산의 양은 많아지지만 그만큼 유전정보를 담고 있는 않는 부분도 많다. splicing과정은 intron을 제거하고 exon을 이어 붙이는 과정이다. Subunit 4, 49kDa은 splicing factor 3b의 하나이다⁴³⁾. 본 실험에서 蜈蚣 藥鍼液 처치 시에 splicing factor 3b, subunit 4 遺傳子가 상승하였는데 좀 더 연구가 필요할 것으로 생각된다.

蜈蚣 藥鍼液을 18시간 처치했을 때 vehicle을 처치한 대조군에 비해 發顯이 抑制된 遺傳子는 anterior gradient 2 homolog(Xenopus laevis), phosphodiesterase 8B 등으로 42종이 있었다

Thompson 등⁴⁴⁾은 anterior gradient 2 homolog(AGR2 or AG2)를 encoding하는 cDNA

를 cloning하였는데 개구리가 분비하는 백악질의 분비선과 상동체였다. Xenopus laevis는 실험용으로 지구상에서 가장 많이 사용되는 개구리이다. 면역조직화학법 실시간 정량적 RT-PCR 분석에 의하면 AG2는 expression of estrogen receptor의 發顯과 양의 상관관계가 있고 EGF receptor의 發顯과 음의 상관관계가 있는 것으로 나타났다⁴⁵⁾. 본 실험에서 蜈蚣 藥鍼液 처치 시에 AG2 遺傳子가 抑制되었는데 좀 더 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Phosphodiesterase(PDE)는 인산 에스테르 구조를 가수분해하는 효소이다. 포유류의 PDEs는 substrate의 친화도와 억제제의 특성에 따라 몇 그룹으로 나눈다. 예컨대 심장에는 PDE3가 있고 남성 성기에는 PDE5가 존재한다. 또 cAMP-specific phosphodiesterase isoform들이 뇌하수체에도 존재한다고 한다. 한편 phosphodiesterase는 cAMP를 분해하는 작용을 하는데 phosphodiesterase의 활성도가 抑制되면 cAMP의 농도를 증가시켜 지방분해가 증가된다⁴⁶⁾. 본 실험에서 蜈蚣 藥鍼液 처치 시에 PDE8B 遺傳子가 抑制되었는데 좀 더 연구가 필요할 것으로 생각된다.

유해자극으로서 1 μ g/ml LPS를 3시간 처치 후 蜈蚣 藥鍼液을 18시간 처치했을 때 vehicle을 처치한 대조군에 비해 發顯이 亢進된 遺傳子는 yeast saccharomyces cerevisiae intergenic sequence 4-1, mitogen-activated protein kinase 1, cytochrome P450, family 19, subfamily A, polypeptide 1 등으로 10종이 있었다.

Yeast saccharomyces cerevisiae intergenic sequence 4-1는 Yeast의 한 종류인데 변형 생물체에서 intergeneric DNA와 이의 發顯 및 유전적 이동에 영향을 줄 intergeneric sequence에 대한 관심이 증가하고 있다⁴⁷⁾. 본 실험에서蜈蚣 藥鍼液 처리 시에 yeast saccharomyces cerevisiae intergenic sequence 4-1 遺傳子가 상승하였는데 좀 더 연구가 필요할 것으로 생각된다.

유해자극으로서 1 μ g/ml LPS를 3시간 처리 후蜈蚣 藥鍼液을 18시간 처리했을 때 vehicle을 처리한 대조군에 비해 發顯이 抑制된 遺傳子는 spermatid perinuclear RNA binding protein, nuclear receptor binding protein 2, mahogunin, ring finger 1 등으로 8종이 있었다.

Spermatid perinuclear RNA-binding protein(SPNR)은 정세포의 발생과 관련하여 microtubule과 연관된 RNA와 결합하는 단백질이다. SPNR의 RNA target은 in vivo에서 잘 알려져 있지 않으나 SPNR은 연장된 정세포에서 protamine 1 mRNA의 전사 활성화와 관련되어 있다는 보고가 있다⁴⁸⁾. 본 실험에서 LPS 처리 후蜈蚣 藥鍼液을 가했을 경우 SPNR 遺傳子가 抑制되었는데 좀 더 연구가 필요할 것으로 생각된다.

LPS 자극 후蜈蚣 藥鍼液 처리 시 遺傳子의 변화는 LPS 처리 후 發顯이 增加된 BCL2-related protein A1, MARCKS-like 1, matrix metalloproteinase 13(collagenase 3) 등의 遺傳

子是蜈蚣 藥鍼液 처리 후 發顯은 M값이 각각 1.55, 1.56, 2.67에서 0.54, 1.02, 0.46 등으로 감소되었다. 이러한 遺傳子의 發顯 변화를 통해蜈蚣 藥鍼液의 효과를 판단할 수 있을 것이다.

LPS 자극 후蜈蚣 藥鍼液 처리 시 遺傳子의 변화는 LPS 처리 후 發顯이 抑制된 activated RNA polymerase II transcription cofactor 4, calcium binding atopy-related autoantigen 1 등의 遺傳子是蜈蚣 藥鍼液 처리 후 發顯의 변화 정도가 명확하지 않아서 위 遺傳子를 통하여서는蜈蚣 藥鍼液의 효과를 판단하기가 어려웠다.

본 실험에서蜈蚣 藥鍼液은 matrix metalloproteinase 13(collagenase 3)과 같은 遺傳子의 發顯 亢進을 抑制하여 염증에 대해서 치료 효과를 나타낼 수 있을 것으로 판단되나 추후 Raw cell 뿐 아니라 백서에 관절염을 직접 유도하여 염증에 대한 효과 검증하는 등 심도있는 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 結 論

LPS로 염증을 유발한 RAW cell에서蜈蚣 藥鍼液의 염증치료를 통한 관절염에 대한 치료 효과를 알아보려고 cDNA microarray chip을 이용하여 遺傳子 發顯 정보를 분석한 결과 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 유해자극으로서 LPS 처리했을 때 대조군에 비해 發顯이 亢進된 遺傳子是 BCL2-

related protein A1, MARCKS-like 1 등으로 20종이 있었고, 發顯이 抑制된 遺傳子는 activated RNA polymerase II transcription cofactor 4, calcium binding atopy-related autoantigen 1 등으로 5종이 있었다.

2. 蜈蚣 藥鍼液을 처치했을 때 대조군에 비해 發顯이 亢進된 遺傳子는 kell blood group precursor(McLeod phenotype), ribosomal protein S7 등으로 139종이 있었고, 發顯이 抑制된 遺傳子는 anterior gradient 2 homolog(xenopus laevis), phosphodiesterase 8B 등으로 42종이 있었다.
3. 유해자극으로서 LPS 처치 후 蜈蚣 藥鍼液을 처치했을 때 대조군에 비해 發顯이 亢進된 遺傳子는 yeast Saccharomyces cerevisiae intergenic sequence 4-1, mitogen-activated protein kinase 1 등으로 10종이 있었고, 發顯이 抑制된 遺傳子는 spermatid perinuclear RNA binding protein, nuclear receptor binding protein 2 등으로 8종이 있었다.
4. LPS 처치 후 發顯이 증가된 BCL2-related protein A1, MARCKS-like 1, matrix metalloproteinase 13(collagenase 3) 등의 遺傳子는 蜈蚣 藥鍼液 처치 후 發顯은 M 값이 각각 1.55, 1.56, 2.67에서 0.54, 1.02, 0.46 등으로 감소되었다.

본 실험에서 蜈蚣 藥鍼液은 matrix metallo-

proteinase 13(collagenase 3)과 같은 遺傳子의 發顯 亢進을 抑制하여 염증에 대한 치료 효과를 나타낼 수 있을 것으로 판단된다.

參 考 文 獻

1. 이홍순. 노인환자 의료의 현황과 전망. 대한 의사협회 제 29차 종합학술대회 초록집. 서울 : 대한의사협회. 1999 : 65-6.
2. 권재식. 痺症. 서울 : 도서출판 鼎談. 1993 : 29, 208-14.
3. 이승덕, 김갑성. 牛膝 및 蜂毒藥鍼이 생쥐의 LPS誘發關節炎의 細胞性免疫反應에 미치는 影響. 大韓鍼灸學會誌. 1999 ; 16(3) : 287-315.
4. 오찬호. 신 면역학입문. 서울 : 지구문화사. 1995 : 118-23.
5. Matsukawa A, Ohkawara S, Maeda T, Takagi K, Yoshinaga M. Production of IL-1 and IL-1 receptor antagonist and the pathological significance in lipopolysaccharide-induced arthritis in rabbits. Clin Exp Immunol. 1993 ; 93(2) : 206-11.
6. 全國韓醫科大學 本草學教室. 本草學. 서울 : 圖書出版 永林社. 1994 : 508-9.
7. 金柸希, 金成勳, 宋孝貞. 蜈蚣의 鎮痛, 消炎, 鎮痙 및 毒性 作用에 관한 實驗的 研究. 대한 의학회지. 1993 ; 14(2) : 381-93.
8. 김성남, 김성철, 최희강, 소기숙, 임정아, 황우준 외. 環跳穴 蜈蚣藥鍼 刺戟이 白鼠의 神

- 經病理性 痛症 抑制에 미치는 影響. 大韓鍼灸學會誌. 2004 ; 21(3) : 145-67.
9. Wilgenbus KK, Lichter P. DNA chip technology ante portas. *J Mol Med.* 1999 ; 77(11) : 761-8.
 10. 한상원, 서정철, 이운호, 최제용. 鹿茸藥鍼液의 DNA chip을 이용한 遺傳子 發顯 分析. 대한침구학회지. 2003 ; 20(3) : 34-44.
 11. Lee JN, Ye J. Proteolytic Activation of Sterol Regulatory Element-binding Protein Induced by Cellular Stress through Depletion of Insig-1. *J. Biol. Chem.* 2004 ; 279(43) : 45257-65.
 12. Hong X, Li Y, Hussain M, Sarkar FH. Gene expression profiling reveals novel targets of estramustine phosphate in prostate cancer cells. *Cancer Lett.* 2004 ; 209(2) : 187-95.
 13. Schuler GD, Bonguski MS, Stewart EA, Stein LP, Gyapay G, Rice K, et al. A gene map of the human genome. *Science.* 1996 ; 274(5287) : 540-6.
 14. Hedric SM, Cohen DI, Nielsen EA, Davis MM. Isolation of cDNA clones encoding T-cell specific membrane associated proteins. *Nature.* 1984 ; 308(5955) : 149-53.
 15. Liang P, Averboukh L, Keyomarsi K, Sager R, Pardee AB. Differential display and cloning of messenger RNAs from human breast cancer versus mammary epithelial cells. *Cancer Res.* 1992 ; 52(24) : 6966-8.
 16. Guimaraes MJ, Lee F, Zlotnik A, McClanahan T. Differential display by PCR: novel findings and applications. *Nucleic Acids Res.* 1995 ; 23(10) : 1832-3.
 17. Kurian K, Watson CJ, Wyllie AH. DNA chip technology. *J Pathos.* 1999 ; 187(3) : 267-71.
 18. Gerhold D, Rushmore T, Caskey T. DNA chips : promising toys have become powerful tools. *TIBS.* 1999 ; 24 : 165-73.
 19. Inada M, Wang Y, Byrne MH, Rahman MU, Miyaura C, Lopez-Otin C, et al. Critical roles for collagenase-3 (Mmp13) in development of growth plate cartilage and in endochondral ossification. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 ; 101(49) : 17192-7.
 20. Fu Y, Xie C, Yan M, Li Q, Joh JW, Lu C, et al. The lipopolysaccharide -triggered mesangial transcriptome: Evaluating the role of interferon regulatory factor-1. *Kidney Int.* 2005 ; 67(4) : 1350-61.
 21. Byron CR, Orth MW, Venta PJ, Lloyd JW, Caron JP. Influence of glucosamine on matrix metalloproteinase expression and activity in lipopolysaccharide-stimulated equine chondrocytes. *Am J Vet Res.* 2003 ; 64(6) : 666-71.
 22. Stumpo DJ, Eddy RL Jr, Haley LL, Sait S, Shows TB, Lai WS, et al. Promoter se-

- quence, expression, and fine chromosomal mapping of the human gene (MLP) encoding the MARCKS-like protein: identification of neighboring and linked polymorphic loci for MLP and MACS and use in the evaluation of human neural tube defects. *Genomics*. 1998 ; 49(2) : 253-64.
23. D'Sa-Eipper C, Subramanian T, Chinnadurai G. Bfl-1, a bcl-2 homologue, suppresses p53-induced apoptosis and exhibits potent cooperative transforming activity. *Cancer Res*. 1996 ; 56 : 3879-82.
24. Hu X, Yee E, Harlan JM, Wong F, Karsan A. Lipopolysaccharide induces the anti-apoptotic molecules, A1 and A20, in microvascular endothelial cells. *Blood*. 1998 ; 92(8) : 2759-65.
25. Ge H, Roeder RG, Purification, cloning, and characterization of a human coactivator, PC4, that mediates transcriptional activation of class II genes. *Cell* 1994 ; 78 : 513-23.
26. Natter S, Seiberler S, Hufnagl P, Binder BR, Hirschl AM, Ring J, et al. Isolation of cDNA clones coding for IgE autoantigens with serum IgE from atopic dermatitis patients. *FASEB J*. 1998 ; 12 : 1559-69.
27. Russo DC, Lee S, Reid ME, Redman CM. Point mutations causing the McLeod phenotype. *Transfusion*. 2002 ; 42(3) : 287-93.
28. Hosaka H, Yao M, Kimura M, Tanaka I. The structure of the archaebacterial ribosomal protein S7 and its possible interaction with 16S rRNA. *J Biochem*. 2001 ; 130(5) : 695-701.
29. Kubo N, Harada K, Hirai A, Kadowaki K. A single nuclear transcript encoding mitochondrial RPS14 and SDHB of rice is processed by alternative splicing: common use of the same mitochondrial targeting signal for different proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999 ; 96(16) : 9207-11.
30. Wang PJ, McCarrey JR, Yang F, Page DC. An abundance of X-linked genes expressed in spermatogonia. *Nature Genet*. 2005 ; 27 : 422-6.
31. Graphodatsky AS, Vorobieva NV, Filipenko ML, Voronina EV, Frengen E, Prydz H. Assignment of the L11 ribosomal protein gene (RPL11) to human chromosome 1p36.1-p35 by in situ hybridization. *Cytogenet. Cell Genet*. 1999 ; 84 : 97-98.
32. Laine RO, Shay NF, Kilberg MS. Nuclear retention of the induced mRNA following amino acid-dependent transcriptional regulation of mammalian ribosomal proteins L17 and S25. *J Biol Chem*. 1994 ; 269(13) : 9693-7.
33. Davies B, Fried M. The L19 ribosomal pro-

- tein gene (RPL19): gene organization, chromosomal mapping, and novel promoter region. *Genomics*. 1995 ; 25 : 372-80.
34. Henry JL, Coggin DL, King CR. High-level expression of the ribosomal protein L19 in human breast tumors that overexpress erbB-2. *Cancer Res*. 1993 ; 53(6) : 1403-8.
35. Barnard GF, Staniunas RJ, Puder M, Steele GD. Jr, Chen LB. Human ribosomal protein L37 has motifs predicting serine/threonine phosphorylation and a zinc-finger domain. *Biochim Biophys Acta*. 1994 ; 1218 : 425-8.
36. Su S, Bird RC. Cell cycle, differentiation and tissue-independent expression of ribosomal protein L37. *Europ J Biochem*. 1995 ; 232 : 789-97.
37. Nielsen PJ, McMaster GK, Trachsel H. Cloning of eukaryotic protein synthesis initiation factor genes: isolation and characterization of cDNA clones encoding factor eIF-4A. *Nucleic Acids Res*. 1985 ; 13 : 6867-80.
38. Jones E, Quinn CM, See CG, Montgomery DS, Ford MJ, Kolble K, et al. The linked human elongation initiation factor 4A1 (EIF4A1) and CD68 genes map to chromosome 17p13. *Genomics*. 1998 ; 53 : 248-50.
39. Ou JH, Yen TSB, Wang YF, Kam WK, Rutter WJ. Cloning and characterization of a human ribosomal protein gene with enhanced expression in fetal and neoplastic cells. *Nucleic Acids Res*. 1987 ; 15 : 8919-34.
40. Adams MD, Dubnick M, Kerlavage AR, Moreno R, Kelley JM, Utterback TR, et al. Sequence identification of 2,375 human brain genes. *Nature* 1992 ; 355 : 632-4.
41. Tsujikawa K, Tsujikawa M, Yamamoto S, Fujikado T, Tano Y. Allelic homogeneity due to a founder mutation in Japanese patients with lattice corneal dystrophy type IIIA. *Am J Med Genet*. 2002 ; 113 : 20-2.
42. Marriott I, Bost KL. Substance P diminishes lipopolysaccharide and interferon-gamma-induced TGF-beta 1 production by cultured murine macrophages. *Cell Immunol*. 1998 ; 183(2) : 113-20.
43. Champion-Arnaud P, Reed R. The pre-spliceosome components SAP 49 and SAP 145 interact in a complex implicated in tethering U2 snRNP to the branch site. *Genes Dev*. 1994 ; 8 : 1974-83.
44. Thompson DA, Weigel RJ. hAG-2, the human homologue of the *Xenopus laevis* cement gland gene XAG-2, is coexpressed with estrogen receptor in breast cancer cell lines. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998 ; 251 : 111-6.
45. Fletcher GC, Patel S, Tyson K, Adam PJ, Schenker M, Loader JA, et al. hAG-2 and

- hAG-3, human homologues of genes involved in differentiation, are associated with oestrogen receptor-positive breast tumours and interact with metastasis gene C4.4a and dystroglycan. *Brit J Cancer*. 2003 ; 88 : 579-85.
46. Hayashi M, Matsushima K, Ohashi H, Tsunoda H, Murase S, Kawarada Y, et al. Molecular cloning and characterization of human PDE8B, a novel thyroid-specific isozyme of 3-prime, 5-prime-cyclic nucleotide phosphodiesterase. *Biochem. Biophys Res Commun*. 1998 ; 250 : 751-6.
47. Shpakovski GV. The fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* rpb6 gene encodes the common phosphorylated subunit of RNA polymerase and complements a mutation in the corresponding gene of *Saccharomyces cerevisiae*. *Gene*. 1994 ; 147(1) : 63-9.
48. Pires-daSilva A, Nayernia K, Engel W, Torres M, Stoykova A, Chowdhury K, et al. Mice deficient for spermatid perinuclear RNA-binding protein show neurologic, spermatogenic, and sperm morphological abnormalities. *Dev Biol*. 2001 ; 233(2) : 319-28.