

## 薑黃 추출물이 유방암 세포주 MCF-7 증식 억제에 미치는 영향

조수인<sup>1#\*</sup>, 정선<sup>1</sup>, 김형우<sup>1</sup>, 박지은<sup>2</sup>, 김영균<sup>2</sup>

1 : 동신대학교 한의과대학 본초학교실 2 : 동의대학교 한의과대학 내과학교실

### Inhibition of Cellular Proliferation by CURCUMAE LONGAE Rhizoma Extracts on MCF-7

Su-In Cho<sup>1#\*</sup>, Sun Jung<sup>1</sup>, Hyung-Woo Kim<sup>1</sup>, Ji-Eun Park<sup>2</sup>, Young-Gyun Kim<sup>2</sup>

1 : College of Korean Medicine, Dongshin University 2 : College of Korean Medicine, Dong-Eui University

#### ABSTRACT

**Objectives** : This investigation was undertaken to evaluate the anti-proliferation of CURCUMAE LONGAE Rhizoma extracts using MCF-7, human breast cancer cells.

**Methods** : MCF-7 cells were cultured in Dulbecco's modified Eagle's medium/F12supplemented with 10 % fetal bovine serum and antibiotics. At varying times after extract treatment, cells were harvested with scraper and processed for analysis of proliferation, cytotoxicity.

**Results** : The extract of CURCUMAE LONGAE Rhizoma strongly inhibits the proliferation of MCF-7 cells in a dose and time-dependent manner. Sulforhodamine B assay showed that the addition of ethanol extract of CURCUMAE LONGAE Rhizoma reduced the viability of MCF-7 cells in a dose-dependent manner.

**Conclusion** : So, it can be concluded that CURCUMAE LONGAE Rhizoma have an inhibitive effect on MCF-7 human breast cancer cells.

**Key words** : CURCUMAE LONGAE Rhizoma, MCF-7, human breast cancer, inhibitive effect.

## 서 론

최근 10 년 간 암에 의한 사망률 변화를 보면 인구 10 만 명 당 1994 년 112.7 명에서 2004 년 133.5 명으로 20.8 명 증가하였으며, 인구 10 만 명 당 사망률이 가장 많이 증가한 암은 폐암으로 8.7 명 증가하였으며, 여성에 있어서 자궁암은 감소의 추세를 보이고 있으나 유방암은 현재 국내 여성암 중 발병율 1 위이면서 그 발병율이 계속 증가하고 있다<sup>1)</sup>.

유방암은 미국을 비롯한 서구 국가에서 발병율이 가장 높은 암으로 한국을 포함한 동양인에서는 발생이 다소 낮은 편이지만 식생활, 수유 방법 및 환경의 변화 등으로 인해 한국인 여성에서의 발생율은 위암에 이어 2 위를 차지하고 있으며, 매년 급증하고 있는 추세이다<sup>2)</sup>.

유방암과 유사한 한의학적 질환으로 乳巖·乳癰·吹乳·乳癆·乳中結核·乳癰·乳痰 등이 있는데 이중 乳巖이 현재의 유방암에 가장 부합되며 그 밖의 명칭들은 乳巖을 단계별로 다양하게 분류한 것으로 보이며 疏氣行血之法을 치료의 기본으로 삼고 있다<sup>3)</sup>.

본 연구의 재료로 사용된 薑黃(CURCUMAE LONGAE Rhizoma)은 生薑科에 속한 草本인 薑黃(Curcuma longa)의 根莖을 건조한 것으로 破血行氣·通經止痛 등의 효능이 있어 心腹痞滿脹痛·經閉·癥瘕 등의 증상에 이용되어져 왔다<sup>4)</sup>. 따라서 乳巖의 기본 치료 원칙과도 부합되는 것으로 생각되어 본 연구에 이용하게 되었다.

薑黃에 대한 최근의 연구로는 정 등<sup>5)</sup>이 薑黃으로부터 초임계 유체 추출한 curcumin의 생리활성을, 최<sup>6)</sup>가 우리나라 남부지역에서 薑黃의 생육특성을 보고 하였을 뿐 기타의 연구는 찾아볼 수 없었으며 다만 이 등<sup>7)</sup>이 鬱金丹과 薑黃의 기원에 관한 연구를 발표한 이후 한의학계에서의 연구는 거의 전무한 실정이다.

유방암과 관련한 한의학계에서의 실험 연구 역시 그다지 많지 않은데 박 등<sup>8)</sup>이 鬼箭羽를, 용 등<sup>9)</sup>이 黃芩을, 권 등<sup>10)</sup>이 半枝蓮을, 여 등<sup>11)</sup>이 蜂毒 藥鍼液을, 하 등<sup>12)</sup>이 槲寄生을, 송 등<sup>13)</sup>이 抗癌丹을, 현 등<sup>14)</sup>이 加味雙和湯을, 서 등<sup>15)</sup>이 淸肝解鬱湯을 재료로 유방암 세포의 성장억제 및 세포사 등에 관한 연구 결과를 발표한 바 있으며, 약학계에서 한약재 중 하나인 夏枯草를 에탄올로 추출하여 유방암 예방 효소계에 유효하게 작용한다는 연구<sup>16)</sup>를 발표한 바 있다.

이에 본 연구에서는 破血行氣 등의 효능을 가진 薑黃도 유방암에 효과적으로 작용할 수 있을 것으로 생각되어 물 및 에탄올로 추출한 후 MCF-7 세포주

의 성장에 미치는 영향을 관찰하여 그 결과를 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 시약 및 기기

일반 시약의 경우 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, 플라스틱 실험도구는 Falcon Labware(Becton-Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA)에서 구입하여 사용하였다. CellTiter 96 Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay Kit는 Promega(CA, USA)에서, 배지는 GIBCO BRL(Life Technologies, CA, USA)에서 구입하여 사용하였다.

#### 2) 세포주

인간 유방암 세포주인 MCF-7은 한국 세포주 은행에서 구입하여 사용하였다.

### 2. 방법

#### 1) 薑黃 추출물의 제조

실험에 사용된 약재인 薑黃은 인디아에서 재배된 제품을 구입하였으며 동신대학교 한의과대학 본초학 교실에서 확인 및 정선 과정을 거친 후 추출물을 만들었다. 薑黃 에탄올 추출물의 경우 200 g의 薑黃을 99.8% 에탄올을 가하여 상온에서 24 시간 3 회 추출하였다. 잔여물을 제거하기 위해 여과(Whatman filter paper No. 10)한 후 여과액을 감압농축한 후 동결 건조하여 17 g의 건조 추출물을 얻었다. 물 추출물의 경우는 건조 분말된 薑黃 200 g을 1500 ml 1 차 증류수에 30 분 동안 담근 후 약탕기(대용 1500T, 한국)를 이용하여 2 시간 동안 전탕하였다. 전탕 후 여과, 감압 농축 및 동결 건조의 과정을 거쳐 22 g의 건조 추출물을 얻었으며, 4℃ 냉장 보관하면서 필요에 따라 소량 씩 사용하였다.

#### 2) 세포 배양과 추출물 처리

MCF-7을 Dulbecco's modified Eagle's medium(F12DMEM/F12)에 10% fetal bovine serum(FBS; Gibco)와 항생제를 가하여 만든 배지를 이용하여 배양하였다. 60-mm 배양 접시에는  $1 \times 10^6$  cells/ml을 접종해 실험을 수행하였고, 96-well plate에는  $5 \times 10^3$  cells/well로 세포를 접종해

실험을 수행하였다. 추출물을 적절한 시간동안 처리한 후 수거하여 세포 성장 정도를 측정하였다.

### 3) 세포 증식 측정

MCF-7을 96-well plates에 접종한 뒤 24 시간이 지난 후 다양한 농도의 추출물을 처리하였다. 적절한 시간이 지난 후 각 well에 20  $\mu$ l의 CellTiter 96 Aqueous One Solution Reagent(Promega Corp.)를 첨가한 후 3 시간 동안 37 $^{\circ}$ C 세포배양기에서 배양한 후 ELISA plate reader를 사용하여 490 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

### 4) 세포 독성 측정

추출물의 세포 독성은 in vitro Toxicology Assay Kit(SIGMA)을 이용하여 측정하였다. MCF-7 세포를 96-well flat-bottomed plates에 접종해 24 시간 동안 배양한 후 다양한 농도로 추출물을 처리하였다. 적당한 시간이 지난 후 1/4 양의 차가운 50% TCA 용액을 가해 세포를 고정시킨 후 1시간 동안 4 $^{\circ}$ C에 두었다. 세포를 증류수를 이용해 7-8 회 씻어 TCA를 제거한 후 상온에 두어 완전히 건조시켰다. Sulforhodamin B solution(0.4%)을 세포가 충분히 덮일 정도로 가한 후 20 분 동안 상온에 두어 염색시켰다. 염색 후 1% acetic acid로 7-8 회 씻은 후 상온에서 완전히 건조시킨 후 Sulforhodamine B Assay Solubilization Solution(10mM Tris)을 처음 배지의 양과 동량을 가한 후 상온에서 5 분 간 두어 염료를 녹여낸 후 ELISA plate reader를 사용하여 565 nm 파장에서의 흡광도를 측정하였다.

### 5) 통계처리

결과에 대한 통계적 분석은 통계 패키지인 SAS(The SAS System for Windows, ver. 6.12, SAS Institute, U.S.A.)를 이용하였다. 실험 성적은 평균 $\pm$ 표준편차(mean $\pm$ SD)로 나타내었으며, 각 실험군 간의 평균의 차이를 검정할 때에는 student's t-test로 검정하여 p-값이 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

## 성 적

### 1. 薑黃 추출물 500 $\mu$ g/ml 농도 72 시간에서의 증식 억제 효과

薑黃 추출물이 인간 유방암 세포주인 MCF-7의 성장에 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과 薑黃 추출

물을 500  $\mu$ g/ml 농도로 처리하였을 때 MCF-7 세포의 증식이 억제되는 경향을 보였고, 세포의 형태에도 변화가 나타났다(Fig. 1).

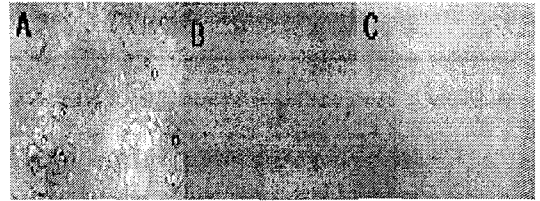


Fig. 1. Microphotographs show the inhibitory effect of CURCUMAE LONGAE Rhizoma extract on human breast cancer cell(MCF-7) growth. MCF-7 cell lines were plated onto 6-well plates and treated with drug-free media(A) or media containing 500  $\mu$ g/ml of ethanol(B) and water(C) extract for 72 hrs. These photographs were taken directly from culture plates using a phase microscope( $\times$ 100 magnification).

### 2. 薑黃 추출물 농도에 따른 증식 억제 효과

MCF-7 증식 억제 효과는 薑黃 추출물의 농도에 따라 증가하였으며, 에탄올 추출물의 경우 250  $\mu$ g/ml의 농도에서 가장 강한 효과를 보이다 농도의 증가에 따라 다시 증식 억제가 약화되는 결과를 보였으며(Fig. 2), 물 추출물의 경우 추출물의 농도에 따라 지속적으로 세포 증식 억제 효과가 나타났고, 1000  $\mu$ g/ml 농도에서부터 통계적으로 유의하였다(Fig. 3).

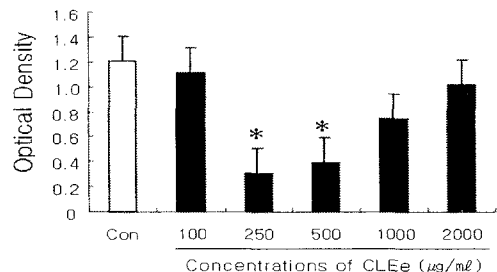


Fig. 2. Dose-dependent effects of ethanol extract of CURCUMAE LONGAE Rhizoma(CLEe) on cell growth. MCF-7 cells were plated onto 96-well plates and treated with or without(control, con) varying concentrations(100, 250, 500, 1000 and 2000  $\mu$ g/ml) of extract for 72 hrs. The number of viable cells in each well was quantified by using MTS assays. Data are representative of at least three independent experiments. Error bars represent mean $\pm$ SD. \*, statistically different when compared with control group(Con).

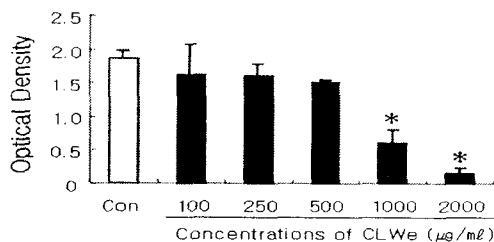


Fig. 3. Dose-dependent effects of water extract of CURCUMAE LONGAE Rhizoma (CLWe) on cell growth. MCF-7 cells were plated onto 96-well plates and treated with or without (control, con) varying concentrations (100, 250, 500, 1000 and 2000 µg/ml) of extract for 72 hrs. The number of viable cells in each well was quantified by using MTS assays. Data are representative of at least three independent experiments. Error bars represent mean±SD. \*, statistically different when compared with control group (Con).

### 3. 배양 시간에 따른 薑黃 추출물의 MCF-7 증식 억제 효과

薑黃 에탄올 및 물 추출물을 1000 µg/ml의 농도로 처리한 후 배양하면서 시간에 따라 증식 억제 효과를 관찰한 결과, 두 종류의 추출물 모두에서 MCF-7 세포 증식 억제 효과는 시간에 비례해서도 증가하였다 (Fig. 4, 5). 특히 에탄올 추출물 (Fig. 4)에서 보다 물 추출물 (Fig. 5)에서 그 효과가 강하게 나타났으며, 배양 시작 48 시간 이후부터 통계적으로 유의한 결과를 보였다.

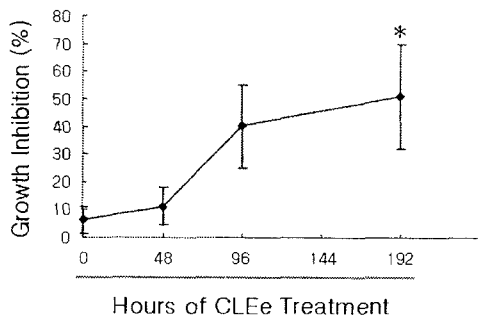


Fig. 4. Time-dependent effects of CLEe on cell growth. MCF-7 cells were plated onto 96-well plates and treated with 500 µg/ml concentration or without of extract for 48, 96 and 192 hrs. The number of viable cells in each well was quantified by using MTS assays. Results (optical densities) were calculated as the percentage of unexposed control cultures. Data are representative of at least three independent experiments. Error bars represent mean±SD. \*, statistically different when compared with control group (0).

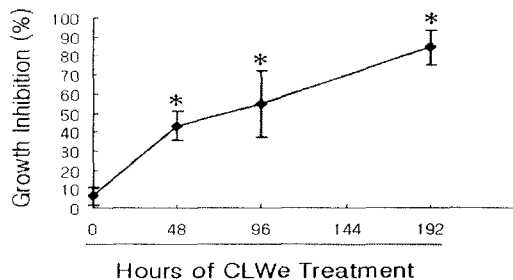


Fig. 5. Time-dependent effects of CLWe on cell growth. MCF-7 cells were plated onto 96-well plates and treated with 500 µg/ml concentration or without of extract for 48, 96 and 192 hrs. The number of viable cells in each well was quantified by using MTS assays. Results (optical densities) were calculated as the percentage of unexposed control cultures. Data are representative of at least three independent experiments. Error bars represent mean±SD. \*, statistically different when compared with control group (0).

### 4. 薑黃 추출물의 MCF-7에 대한 세포 독성 효과

薑黃의 MCF-7 증식 억제 기전 특성을 알아보기 위해 薑黃 에탄올 및 물 추출물이 MCF-7에 세포 독성을 나타내는지를 Sulforhodamine B assay 방법을 이용해 측정하였다.

그 결과 Fig. 6 및 Fig. 7에서 나타나듯이 薑黃 에탄올 및 물 추출물을 배지에 처리하였을 경우 MCF-7에 대해 薑黃 추출물의 농도에 비례해 세포 독성을 나타내었다.

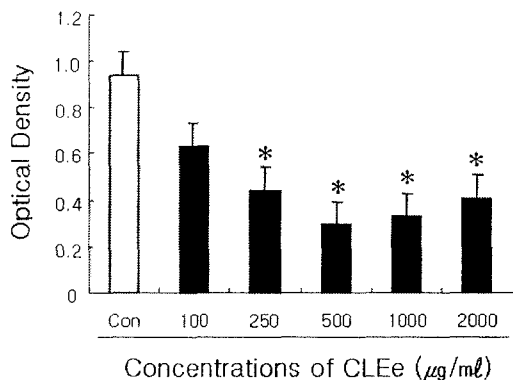


Fig. 6. Cytotoxic effects of CLEe in MCF-7 cells. MCF-7 cells were treated with the indicated concentrations of extract for 48 hrs. The cells were then processed for Sulforhodamine B assay. Each bar represents the mean±SD values of three separate experiments. \*, statistically different when compared with control group (Con).

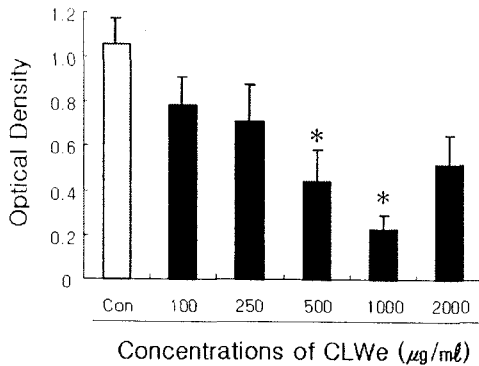


Fig. 7. Cytotoxic effects of CLWe in MCF-7 cells. MCF-7 cells were treated with the indicated concentrations of extract for 48 hrs. The cells were then processed for Sulforhodamine B assay. Each bar represents the mean $\pm$ SD values of three separate experiments. \*, statistically different when compared with control group(Con).

## 고찰

薑黃은 생강과(生薑科; Zingiberaceae)에 속한 多年生 宿根草本인 薑黃(*Curcuma longa*)의 根莖을 건조한 것으로, 겨울에 莖葉이 시들었을 때 채취하여 깨끗이 씻은 다음 삶거나 찌서 건조하여 사용한다. 열대 아시아가 원산지로서 중국의 福建·廣東 등지에 분포하며, turmerone·zingerene·curcumin 등을 함유하고 있다. 性은 溫하고 味는 辛苦하며 肝脾로 歸經하여 破血行氣·通經止痛 등의 효능으로 心腹痞滿脹痛·經閉·癥瘕·風濕肩臂疼痛·跌撲腫痛 등을 치료하며, 혈압 강하·항균 등의 약리 작용을 가지고 있는 것으로 알려져 있다<sup>4)</sup>. 따라서 본 연구에서는 破血 등의 효능을 가지고 있는 薑黃이 疏氣行血의 치법을 가진 乳巖 즉 현대적 용어인 유방암에 효과적으로 작용할 수 있을 것으로 생각되어 재료로 사용하게 되었다.

유방암은 우리나라의 경우 발병 연령이 40~50 대로, 외국 여성의 60~70 대에 비해 더 낮은 추세를 보이고 있고 특히 2002 년 새로 발생한 암 환자 중에서 증가율 1위를 차지하였다<sup>17)</sup>. 이것은 1995 년에 비하면 약 166% 가량 증가한 것으로, 유방암은 증가 속도가 가장 빠른 암의 하나이며, 따라서 그 위험성은 매우 높아지고 있는 추세이다<sup>18)</sup>.

통계청 자료<sup>1)</sup>에 의하면 1994 년에 비해 2004 년의 경우 여성 인구 10 만 명 당 유방암으로 인한 사망자

수가 3.8 명에서 6.2 명으로 급격하게 증가하는 추세인데 이는 자궁암으로 인한 사망자 수가 6.8 명에서 5.5 명으로 줄어든 것에 비하면 그 증가 추세가 급격하다는 것을 알 수 있다.

유방암은 40 대 이후, 남자보다는 여자, 유전적 소인이나 과거병력, 에스트로겐에의 장기간 노출 즉 고령출산·미경산부·조기 초경·만기 폐경의 경우 호발하며<sup>19)</sup> 여성의 사회 활동에 따른 경구피임약제의 복용과 각종 정신적 스트레스, 식생활의 변화에 따른 지방 식이의 섭취와 비만증이 늘어남에 따라 유방암의 위험도를 증가시키고 있다<sup>3,20)</sup>. 증상으로는 유방 종괴·섬유화·유방통·병적 유두 분비물이 나타나며 치료는 항암화학요법, 외과적 절제, 방사선 조사 등을 시행하고 있으나<sup>21)</sup> 유방암의 높은 발생률과 낮은 생존율에는 충분히 효과적이지 않은 것으로 보고 되고 있다. 따라서 유방암의 새로운 치료법을 연구, 모색과 유방암에 대한 한약재의 치료 효과 및 기전을 규명하는 일이 더욱 의미 있는 일일 것이다.

한의학에서의 유방암과 관련된 기록으로 薛<sup>22)</sup>은 『校注婦人大全良方』乳癰乳巖方論에서 처음에는 안에 작은 硬結로 시작하여 발적되거나 통증이 있지는 않으며 점점 커진 후에 안쪽부터 궤양이 되기 시작하여 깊은 구멍이 생기고 血水가 흐른다고 하여 乳巖의 초기 발생부터 진행되는 과정을 묘사하였고, 朱<sup>23)</sup>는 『丹溪心法附餘』癰疽에서 수년이 지나 瘡이 생기고 움푹 패이게 되면 치료할 수 없다고 하였으며, 龔<sup>24)</sup>은 『萬病回春』乳巖에서 아직 터지지 않은 것은 치료가 가능하나 瘡이 생기면 不治라 하여 진행된 乳巖의 예후가 不良함을 서술하는 등 한의학 고전에서 유방암과 관련된 많은 기록들을 찾아볼 수 있다.

유방암과 관련된 한의학에서의 연구 중 단일 약재로 鬼箭羽·黃芩·半枝蓮·槲寄生 등을, 복합 처방으로 抗癌丹·加味雙和湯·清肝解鬱湯 등을, 기타 제형으로 蜂毒 藥鍼液 등을 사용하여 효과적으로 이용할 수 있음을 발표한 연구<sup>8-15)</sup> 등은 있었으나 薑黃을 재료로 한 연구는 찾아 볼 수 없었다.

따라서 본 연구에서는 破血行氣 등의 효능을 가진 薑黃을 물 및 에탄올로 추출한 후 인간 유방암 세포주 중 하나인 MCF-7의 성장에 미치는 영향을 관찰하여 보았다.

그 결과 薑黃 추출물을 500  $\mu\text{g/ml}$  농도로 처리하였을 때 MCF-7 세포의 증식이 억제되는 경향을 보였고, 세포의 형태에도 변화가 나타났(Fig. 1). 이에 薑黃 추출물 농도에 따른 증식 억제 효과를 살펴보면, 에탄올 추출물의 경우 250  $\mu\text{g/ml}$  부근의 농도에

서(Fig. 2), 물 추출물은 추출물의 농도에 따라 세포 증식 억제 효과가 나타났으며 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도에서부터 통계적으로 유의하였다(Fig. 3).

배양 시간에 따른 薑黃 추출물의 MCF-7 증식 억제 효과를 관찰하기 위해 추출물을 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 처리한 후 배양하면서 시간에 따라 증식 억제 효과를 관찰하였다. 그 결과 추출물 모두에서 MCF-7 증식 억제 효과는 시간에 비례해서도 증가하였는데(Fig. 4, 5), 물 추출물에서는 배양 시작 48 시간 이후부터 통계적으로 유의한 결과를 보였다(Fig. 5).

薑黃의 MCF-7 증식 억제 기전 특성을 알아보기 위해 Sulforhodamine B assay 방법을 이용해 측정하였는데 이 방법은 Sulforhodamine B를 이용해 세포 내 단백질을 염색함으로써 전체 세포내 물질의 양을 측정하는 방법이다. 그 결과 薑黃 에탄올 추출물에서는 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 물 추출물에서는 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$  부근에서 가장 유의한 세포 독성을 나타내었다(Fig. 6, 7).

이상의 결과를 종합하면 薑黃 물 및 에탄올 추출물이 유방암 세포의 증식을 효과적으로 억제하였으며 이는 세포 독성을 유발함으로써 유도된 것으로 생각된다. 또한 앞으로 유방암에 대한 薑黃의 임상 적용 연구가 충분히 이루어져야 할 것이며, 여타의 다양한 유방암 세포주를 대상으로 한 지속적인 연구가 필요한 것으로 생각된다.

## 결론

薑黃을 물 및 에탄올로 추출한 후 인간 유방암 세포주 중 하나인 MCF-7의 성장에 미치는 영향을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 薑黃 추출물을 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도로 처리하였을 때 MCF-7의 증식이 억제되는 경향을 보였고 세포의 형태의 변화가 나타났다.
2. 薑黃 추출물 농도에 따른 증식 억제 효과를 살펴 보았는데, 에탄올 추출물의 경우 250  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 물 추출물의 경우 추출물의 농도에 따라 세포 증식 억제 효과가 나타났다.
3. 배양 시간에 따른 薑黃 추출물의 MCF-7 증식 억제 효과를 관찰한 결과 물 및 에탄올 추출물 모두에서 MCF-7 증식 억제 효과는 시간에 비례해서도 증가하였다.
4. 薑黃 에탄올 및 물 추출물 모두에서 MCF-7 증식 억제 효과는 세포 독성에 의한 것으로 나타났다.

## 참고문헌

1. 통계청. 보도자료.  
[http://www.nso.go.kr/newnso/notice/report\\_view.html?content\\_id=3343](http://www.nso.go.kr/newnso/notice/report_view.html?content_id=3343).
2. 보건복지부. 한국인 암등록 조사자료 분석보고서. 2000:5-7.
3. 김정진, 이경섭, 송병기, 유방종괴에 관한 문헌적 고찰. 대한한방부인과학회지. 1998;11(2):29-43.
4. 한의과대학 본초학 편찬위원회. 本草學. 서울:영림사. 2004:457, 458.
5. 정승현, 장규섭, 고경희. 강황(*Curcuma longa* L.)으로부터 초임계 유체 추출한 curcumin의 생리활성. 한국식품과학회지. 2004;36(2):317-320.
6. 최성규. 우리나라 남부지역에서 강황(*Curcuma longa* L.)의 생육특성. 한국약용작물학회지. 2004;12(1):85-88.
7. 이상노, 이상인, 울금과 鬱金 강황의 薑黃 기원에 관한 연구. 대한본초학회지. 1987;2(1):95-108.
8. 박영수, 한지영, 이태균, 김동일. SKBR3 유방암 세포주에 대한 귀전우 메탄올 추출물의 성장억제 및 항산화 효과. 대한한방부인과학회지. 2005;18(1):45-54.
9. 용형순, 고성규. 황금의 유방암 세포주에 대한 항암작용. 대한한방내과학회지. 2004;25(3):451-60.
10. 권은정, 강형정, 이용호, 이태균. 반지련이 유방암에 미치는 영향에 관한 연구. 대한한방부인과학회지. 1999;12(2):148-82.
11. 여성원, 최영현, 장경전, 서정철. 봉독약침액에 의한 인체 유방암세포의 성장억제 및 세포에 관한 연구. 대한한방침구학회지. 2003;20(3):45-62.
12. 하정일, 정선형. 전이된 유방암 환자에 대한 미술도를 사용한 면역요법의 임상례. 대한한방부인과학회지. 2001;14(3):209-17.
13. 송기철, 최병렬, 이용연, 유화승, 서상훈, 최우진 등. 항암단을 투여한 유방암환자 60예에 대한 임상보고. 대한한방내과학회지. 2001;22(4):669-74.
14. 현동환, 김준기, 최달영, 김철호, 박원환. 가미쌍화탕의 유방암 발생 및 전이 억제에 대한 실험적 연구. 대한동의병리학회지. 1997;11(2):108-12.
15. 서정민, 유동열. 청간해울탕이 소염, 진통, 면역세포 및 유방암 세포에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 1997;10(2):69-83.
16. 남경수, 김한규, 손윤희. 하고초 에탄올추출물이 유방암 예방효소에 미치는 영향. 생약학회지. 2003;34(2):161-165

17. 양진향. 발반사 요법이 항암화학요법을 받는 유방암환자의 오심, 구토 및 피로감에 미치는 영향. 대한간호학회지. 2005;35(1):177.
18. 강진오. 유방암의 방사선치료. 경희의학회지. 2005;21(1):37.
19. Townsend S. Textbook of surgery. Elsevier Saunders. 2004:870-2, 881-5
20. 대한산부인과학회. 부인과학 제3판. 서울:칼빈서적. 1997:1299-301.
21. 한의부인과학교재편집위원회. 한의부인과학(상). 서울:도서출판정담. 2001:364-6.
22. 薛己. 校注婦人良方大全. 文光圖書有限公司. 1990: 71-5.
23. 朱震亨. 丹溪心法附餘. 서울:大星文化社. 1993: 585-89.
24. 龔廷賢. 萬病回春. 北京:人民衛生出版社. 1990:73.