대한한방부인과학회지
THE JOURNAL OF ORIENTAL OBSTETRICS & GYNECOLOGY
VOL.21 NO.2 : 038-048 (2008)

紫河車가 子宮筋腫細胞의 成長抑制와 細胞自滅死에 미치는 影響

경희대학교 한방 부인과교실
위효선, 이진무, 이창훈, 조정훈, 장준복, 이경섭

ABSTRACT

Effects of Hominis Placenta on the Growth of Human Uterine Myoma Cells and Cell Apoptosis

Hyo-Sun Wee, Jin-Moo Lee, Chang-Hoon Lee, Jung-Hoon Cho, Jun-Bock Jang, Kyung-Sub Lee
Dept. of Oriental Gynecology, Kyung-hee University

Purpose: This study was conducted to investigate the effects of *Hominis Placenta* (紫河車) on the growth of human uterine myoma cells and cell apoptosis.

Methods: Human uterine leiomyoma cells were cultured and treated with *Hominis Placenta* extract for 48 hours. Cell proliferation and activity was analyzed by MTT assay. We analyzed the cell cycle of human uterine myoma cells treated *Hominis Placenta* extract by FACS. Expression of proteins related to cell apoptosis (Bax, Bcl-2), cyclin-D1 and VEGF were evaluated by Western blotting method.

Results: The human uterine myoma cells treated by *Hominis Placenta* extract didn't proliferate below the concentration of 10㎎/㎖. And there was no remarkable difference on cell cycle analysis below the concentration of 10㎎/㎖. The expression of Bax was decreased and the expression of Bcl-2 was increased after the treatment of *Hominis Placenta* extract. But the expressions of cyclin-D1 and VEGF were increased after the treatment of *Hominis Placenta* extract.

Conclusion: This study suggests that *Hominis Placenta* induce uterine myoma cell apoptosis and have effect on the myoma cell proliferation in the concentraion below 10㎎/㎖.

Key Words: *Hominis Placenta*, Uterine myoma cell, Cell Apoptosis

교신저자(이진무) : 서울시 강동구 상일동 149번지 경희대학교 동서신의학병원 한방부인과
전화 : 02-440-6230 이메일 : hanbang62@freechal.com

Ⅰ. 緖 論

子宮筋腫은 35~45세에서 호발되며, 40세 이상의 여성 40~50%에서 발견되는 흔한 부인과 질환이다. 그 발생 원인은 아직 명확하지 않으나 연령, 인종, 유전적 요인 및 호르몬 등이 관여되며 estrogen 의존성 종양으로 알려져 있다[1-3].

子宮筋腫의 치료는 수술요법[4], 약물요법[5], 자궁동맥색전술[6] 및 고주파 자궁근종용해술[7] 등이 있으며, 그 중 자궁적출술이 가장 보편적인 근치적 방법으로 이용되고 있다[8].

韓醫學的으로는 石瘕와 血癥이 子宮筋腫과 유사하며 넓은 의미에서는 癥瘕에 해당 된다[9]. 최근 子宮筋腫의 증상과 진단에 대한 분석[10,11], 韓藥處方이나 韓藥材의 子宮筋腫 增殖抑制 效果 및 子宮筋腫의 治療에 관한 임상연구[3,12,13] 등이 이루어지고 있다.

癥瘕 治療에는 일반적으로 破積, 消瘀血之劑가 사용되나 子宮筋腫에는 全身衰弱, 倦怠感, 頭痛, 心悸亢進 및 眩暈 등의 虛證 症狀이 흔히 동반된다. 이는 邪氣가 모이는 곳은 그 正氣가 반드시 虛하다는 韓醫學 理論과 유사한 상황으로, 正氣를 充足한 後 積塊를 攻破하는 養正積自除의 治法이 요구된다[14-16].

紫河車는 溫無毒 味甘鹹하고 腎經으로 歸經하여 補精血 益陽氣하며[17] 항감염 작용, 저항력과 재생력 증가, 유선과 난소발육촉진[18], 골다공증 예방 및 치료[19], 생식능력 향상[20,21] 및 월경통 감소[22] 등의 효능이 있어 子宮筋腫으로 유발되는 無氣力, 頭暈, 心悸, 腰痠 및 大便乾結 등의 증상에도 효과가 있을 것으로 사료되나, 子宮筋腫細胞에 대한 영향은 아직까지 보고된 바 없다.

이에 子宮筋腫細胞에 대한 紫河車의 영향을 알아보고자 細胞增殖, 細胞週期 및 細胞自滅死와 血管新生 關聯 인자의 發現을 알아본 결과 약간의 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

Ⅱ. 實 驗

1. 材 料

1) 細 胞

포천중문의과대학 강남차병원에 내원하여 子宮筋腫으로 수술한 32~51세 여성 환자 6명에서 적출물 사용에 관한 동의서 작성 후, 子宮筋腫 조직을 채취하여 사용하였다.

2) 藥 材

인간 태반 조직을 가수분해한 紫河車(*hominis placenta*; (주) 광동제약, 한국)를 경희대학교 한의과대학 부속한방병원 약제과에서 구입하여 사용하였다.

2. 方 法

1) 細胞의 分離와 培養

멸균 냉동된 子宮筋腫 조직을 약 1㎜로 세절 후 calcium-magnesium-free phosphate-buffered saline (이하 PBS; pH7.4, Gibco Laboratories, USA)에 보관하였다. 세절된 子宮筋腫 조직을 PBS로 2~3회 세척하고, 1% antibiotic-antimycotic solution (Gibco Laboratories, USA)과 8㎎의 collagenase II가 포함된 Dulbecco's modified Eagle's medium (이하 DMEM; Gibco Laboratories, USA) 12.5㎖에 넣어 37℃에서 2~3시간 동안

반응시켰다. 이를 100㎛ 멸균필터로 여과하고 500G에서 5분간 원심분리한 후, 1% antibiotic-antimycotic solution이 포함된 DMEM으로 2~3회 세척하였다. 세척된 세포 5×10^5개를 1% antibiotic-antimycotic solution과 10% fetal bovine serum (Gibco Laboratories, USA)이 포함된 DMEM으로 10㎝ tissue culture dish (Falcon, USA)에서 37℃, 5% CO_2로 배양하였으며, 실험 기간 동안 배지는 3일마다 교환하였다.

2) 檢液의 製造와 實驗群 設定

紫河車를 멸균 증류수에 1㎎/㎖, 10㎎/㎖ 및 100㎎/㎖의 농도로 용해하여 檢液을 제조하여 실험에 사용하였으며, 대조군은 무처치군으로 설정하였다.

3) Cell proliferation assay

96 well plate 4개의 well당 子宮筋腫細胞가 3×10^4이 되도록 조정한 다음 1㎎/㎖, 10㎎/㎖ 및 100㎎/㎖의 紫河車 檢液을 처리 후 37℃, 5% CO_2에서 48시간 동안 배양한 후에, 각 well에 Cell Counting Kit-8 (CCk-8 kit, USA)를 넣고 4시간 동안 37℃ 배양기에서 반응시킨 다음 450㎚의 파장을 사용하여 ELISA-reader (Beckman, USA)로 吸光度 (optical density; OD)를 측정하여 세포 증식 정도를 비교하였다.

4) Cell cycle analysis

1×10^6농도로 조정된 子宮筋腫細胞에 1㎎/㎖, 10㎎/㎖ 및 100㎎/㎖의 紫河車 檢液을 각각 처리한 후 48시간 배양하고 8,000rpm으로 5분간 원심분리 하였다. 다음날 8,000rpm으로 4℃, 5분간 원심 분리 후 상층액을 버리고 PBS 1㎖로 2회 세척하였다. 상층액 제거 후 200㎕ PBS와 2㎕ RNase (5㎎/㎖)를 처리하고 5~10분간 반응시켰다. 2㎕ propidium iodide (5㎎/㎖)를 처리 후 37℃에서 15분에서 20분간 반응시키고, FACS tube에 담아 flow cytometry (Bd FACS vantage ^{TM}SE, BD)를 이용하여 cell cycle을 분석하였다.

5) Protein isolation

1㎎/㎖, 10㎎/㎖ 및 100㎎/㎖의 紫河車 檢液을 子宮筋腫細胞에 각각 처리 후 scraper (Corning, UK)로 수집한 다음, 세포가 담겨있던 배지와 함께 1,500rpm에서 5분간 원심분리하여 상층액을 버린 뒤 2㎖ cold PBS로 2회 세척하였다. 단백질 분리에는 PRO-PREP protein extraction solution(iNtRON Biotechnology, Korea)이 이용되었으며, 200㎕의 buffer를 첨가하여 20분 lysis 후 4℃, 13,000rpm에서 20분간 원심분리 하였다. 이 중 상층액을 취해서 Quick StartTM Bradford Dye Reagent (Bio-rad, USA) 처리 후, VERSA max microplate reader (Molecular Devices, USA)를 사용하여 465㎚서 595㎚ 단백질의 吸光度를 측정하였다.

6) Western blotting

정량된 단백질에 lysis buffer와 sample buffer (60mM tris; pH6.8, 10% glycerol), 2% Sodium dodecyl sulfate (이하 SDS), 0.01% bromophenol blue를 섞어 protein 양을 같게 한 후 100℃ heat block에서 5분 동안 boiling하고 spin-down하여 시료를 모았다. 30% polyacrylamide mix와 3차 증류수, 1.5M tris-HCl (pH8.8), 10% SDS, 10% ammonium persulfate, N, N, N′, N′-tetra methyl ethylene diamine (이하 TEMED)를 혼합하여 12% separating gel을 전기영동 유리판에 부어 굳혔다. Stacking gel은 30% polyacrylamide mix

와 3차 증류수, 1M tris (pH6.8), 10% SDS, 10% ammonium persulfate 및 TEMED를 혼합하여 separating gel 위에 부어 완전한 gel을 형성하였다.

Tris base 3.0g, glycine 14.4g 및 SDS 1g을 1ℓ에 녹여 running buffer를 만든 후, 20㎍으로 정량한 단백질 10㎕를 loading하고 100V로 약 1시간 running하였다. 1ℓ에 tris-base 3.03g, glycine 14.63g, methanol 200㎖로 조성된 transfer buffer를 이용하여 전기영동된 gel을 PVDF membrane (Bio-rad, USA)에 100V 1시간 동안 transfer하였다. Transfer된 membrane은 200mM tris-base, 1.54M NaCl, 3차 증류수 및 tween 20으로 조성된 TBST (pH7.5)용액에 skim milk를 5%로 가한 후, 4℃에 overnight하였다.

다음날 blocking 용액을 제거하고, cyclin-D1, Bax, Bcl-2 및 VEGF (Santacruz Inc., USA)의 1차 항체를 5% skim milk로 1000배 희석하여 만든 용액에 membrane을 넣어 1시간 반응시킨 후, TBST 용액으로 10분간 3회 세척하였다. 1차 항체가 처리된 membrane을 2차 항체인 goat anti-mouse IgG HRP (Santacruz Inc., USA)를 5% skim milk로 1000배 희석하여 만든 용액에서 1시간 동안 반응을 유도하고, 용액을 제거 후 TBST로 10분씩 3회 세척하였다. ECL kit (Amersham, USA) 용액 A와 B를 40 : 1로 섞어 membrane에 적시고 1분간 반응시킨 후, cassette에 membrane을 올려놓고 X-ray film으로 감광시켰다. 감광 완료 후 develope하여 band를 확인하고, fixer에 담아 고정시켰다. 고정이 끝난 후, 흐르는 물로 깨끗이 씻어 건조 후 scanning 하여 densitometer (Bio-rad, USA)로 각 밴드의 吸光度를 측정하였다.

7) 統計處理

통계처리는 SPSS 12.0 for Windows를 이용하였고, 대조군과 실험군 사이의 유의성은 ANOVA test 방법을 이용하여 검정하였으며, 실험군 간의 비교는 Tukey B test로 시행하였고, 유의수준은 $p<0.05$인 경우를 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

Ⅲ. 結 果

1. 細胞增殖에 미치는 影響

紫河車 檢液을 子宮筋腫細胞에 농도별로 처리하고 48시간 후 MTT assay를 시행하여 細胞活性 정도를 평가한 결과, 1㎎/㎖群은 0.2362±0.0044, 10㎎/㎖群은 0.2377±0.0016으로 대조군 0.2369±0.0074과 유의한 차이가 없었으나, 100㎎/㎖群은 0.2604±0.0055로 유의한 차이가 있었다(Table 1, Fig. 1).

Table 1. MTT Assay Results of Human Leiomyoma Cell Treated with *Hominis Placenta* Extract

Subject	Control group (0 ㎎/㎖)	HP group		
		1 ㎎/㎖	10 ㎎/㎖	100 ㎎/㎖
	0.2369±0.0074	0.2362±0.0044	0.2377±0.0016	0.2604±0.0055*

HP group: Groups treated with *Hominis Placenta* extract
* Statistically significant by ANOVA test ($p<0.05$)

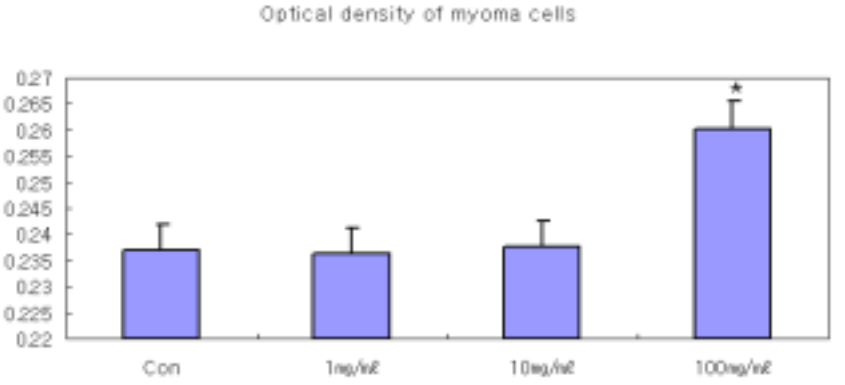

Fig. 1. Proliferation of human leiomyoma cells treated with *Hominis Placenta* extract

2. 細胞週期에 미치는 影響

紫河車 檢液을 子宮筋腫細胞에 48시간 동안 처리한 후 細胞週期를 분석한 결과, 단백질 합성기인 S phase와 체세포 분열이 이루어지는 G2 phase 모두 1㎎/㎖群과 10㎎/㎖群은 대조군에 비하여 큰 차이가 없었으나 100㎎/㎖群에서는 증가를 나타내었다(Table 2, Fig. 2).

Table 2. Cell Cycle Analysis of Human Leiomyoma Cells Treated with *Hominis Placenta* Extract for 48 Hours

Subject	Control group (0 ㎎/㎖)	HP group		
		1 ㎎/㎖	10 ㎎/㎖	100 ㎎/㎖
G1 phase	84.17	81.20	79.65	61.99
G2 phase	6.78	9.36	10.44	25.22
S phase	9.05	9.52	9.91	12.79
G2/G1 phase	2.0	1.93	1.84	1.90

HP group: Groups treated with *Hominis Placenta* extract

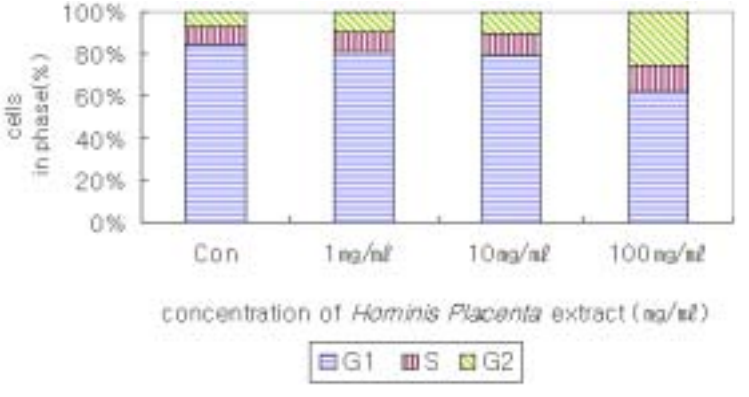

Fig. 2. Effect of *Hominis Placenta* extract on the cell cycle profile

3. Bax 遺傳子 發現에 미치는 影響

紫河車 檢液을 子宮筋腫細胞에 처리한 후 細胞自滅死를 유도하는 Bax 遺傳子의 發現을 관찰한 결과, 대조군에 비해 모두 증가되었으며 대체로 농도 의존적인 증가 경향을 나타내었다(Fig. 3).

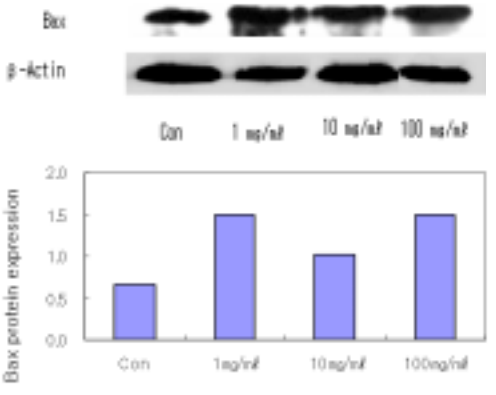

Fig. 3. Western blotting analysis of Bax expression in human leiomyoma cells cultured with *Hominis Placenta* extract for 48 hours

4. Bcl-2 遺傳子 發現에 미치는 影響

紫河車 檢液을 子宮筋腫細胞에 처리한 후 細胞自滅死를 억제하는 Bcl-2 遺傳子의 發現을 관찰한 결과, 대조군에 비해 모두 감소되었으며 대체로 농도 의존적인 감소 경향을 나타내었다(Fig. 4).

5. Cyclin-D1 遺傳子 發現에 미치는 影響

紫河車 檢液을 子宮筋腫細胞에 처리한 후 細胞週期 조절인자인 cyclin-D1 遺傳子의 發現을 관찰한 결과, 대조군에 비해 모두 증가 경향을 나타내었다(Fig. 5).

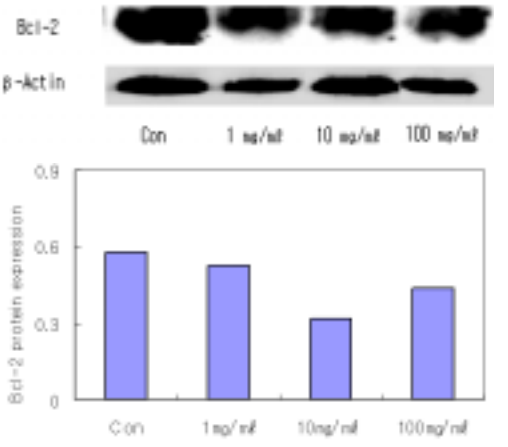

Fig. 4. Western blotting analysis of Bcl-2 expression in human leiomyoma cells cultured with *Hominis Placenta* extract for 48 hours

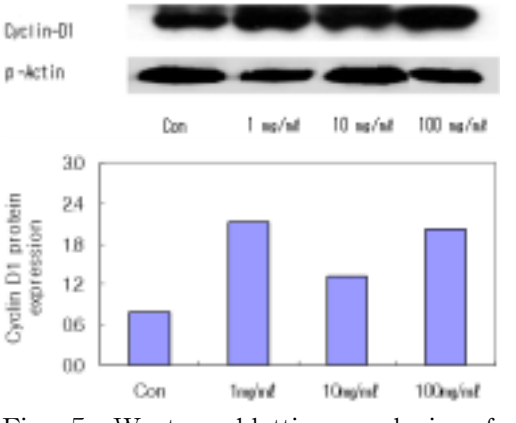

Fig. 5. Western blotting analysis of cyclin-D1 expression in human leiomyoma cells cultured with *Hominis Placenta* extract for 48 hours

6. VEGF 遺傳子 發現에 미치는 影響

紫河車 檢液을 子宮筋腫細胞에 처리한 후 혈관내피생성 인자인 VEGF 遺傳子의 發現을 관찰한 결과, 대조군에 비해 모두 증가 경향을 나타내었다(Fig. 6).

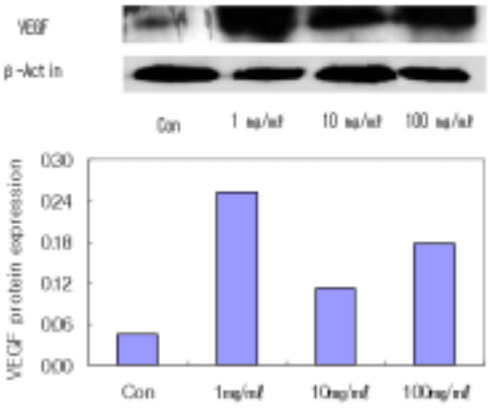

Fig. 6. Western blotting analysis of VEGF expression in human leiomyoma cells cultured with *Hominis Placenta* extract for 48 hours

Ⅳ. 考 察

子宮筋腫은 자궁 및 자궁 부속기에서 발생하는 종양 중 흔한 양성 질환으로, 주로 30세 이상에서 호발하며 가임 여성의 20-40% 정도에서 발견된다[1,2]. 연령, 인종, 유전, 비만, 내인성 에스트로겐의 자극 및 인슐린유사 성장인자 (insulin-like growth factor, IGF-Ⅰ/IGF-Ⅱ) 등이 子宮筋腫의 발생과 연관되어 있다고 알려져 있다[2,23-29].

子宮筋腫의 치료는 수술요법에 의존하는 경우가 대부분이나, 근종절제술을 시행 받을 경우 20-25%에서 子宮筋腫의 재발이 나타나고, 전자궁적출술 시행 시에는 임신 능력의 상실이 불가피 하다[30].

韓醫學에서는 女性의 생식기관에 발생하는 腫塊를 癥瘕라 하며, 腸覃, 石瘕 및 血蠱 등이 있다. 癥瘕의 원인은 氣滯, 瘀血 및 濕痰 등으로 인식되며, 氣滯에는 香稜丸, 大七氣湯 등이, 瘀血에는 桂枝茯苓丸, 膈下逐瘀湯 등이, 濕痰에는 開鬱二陳湯, 三稜煎 등이 이용 된다[1,31].

최근에는 이와 유사한 효능을 가진 韓方 藥物의 子宮筋腫에 대한 효과를 연구하기 위해 七製香附丸, 血府逐瘀湯, 失笑散, 少腹逐瘀湯, 蟠葱散, 五積散, 桂枝茯苓丸 및 膈下逐瘀湯 등[8,21-38]과 鷄血藤, 玄胡索, 益母草, 三稜, 貴箭羽, 半支蓮, 大黃, 香附子 및 魚腥草 등[39-47]에 대한 연구가 보고된 바 있다.

紫河車는 補氣, 養血 및 益精 등의 효능이 있어 氣血不足, 身體虛弱 및 腎虛精虧 등에 활용되므로[17] 子宮筋腫으로 유발되는 각종 虛證 症狀 개선과 치료에 養正積自除의 治法으로 중요한 의의가 있을 것으로 사료되나 아직까지 이에 대한 연구는 보고된 바 없다.

이에 子宮筋腫細胞에 대한 紫河車의 영향을 알아보고자 細胞增殖, 細胞週期 및 細胞自滅死와 血管新生 關聯 인자의 發現에 관한 연구를 시행한 결과, MTT assay를 통한 細胞 活性度는 10㎎/㎖群 이하에서는 대조군에 비해서 유의한 차이가 없었다. 100㎎/㎖ 약물 농도는 특정 약물이 인체 조직에 노출되기 불가능한 고농도로, 10㎎/㎖ 이하 농도로 활용 시 紫河車는 子宮筋腫의 성장에 영향을 미치지 않을 것으로 생각된다.

세포의 성장 및 분화는 세포가 정상적으로 자라는데 필수적 과정으로, 세포 손상 시 정상세포는 비정상적인 細胞週期를 거치게 된다[48]. 細胞週期는 DNA 합성의 조절 시기에 따라 합성전기 (G1 phase), 합성기 (S phase), 합성후기 (G2 phase) 및 유사분열기 (M phase)로 나눌 수 있는데, 細胞自滅死가 일어나면 합성전기에서 합성기로 넘어가지 못하고, sub G1 단계에 머물러 정상 細胞週期에 이상을 초래한다[49].

子宮筋腫細胞에 紫河車를 1, 10 및 100 ㎎/㎖의 농도로 48시간 동안 처리한 후 細胞週期를 분석한 결과, 10㎎/㎖群 이하에서는 대조군에 비해서 큰 차이가 없었다. 이상의 결과들을 통해 10㎎/㎖ 이하 농도의 紫河車 투여가 합성기와 합성후기의 증가를 가져오지는 않았으며, 子宮筋腫의 성장 및 분화에도 영향을 미치지 않음을 확인할 수 있었다.

Bcl-2 遺傳子는 다양한 자극에 의해 세포사멸을 억제하여 세포의 증식을 유발하고, Bax 遺傳子는 세포사멸을 유발하여 세포의 증식을 억제하는데 이 두 遺傳子가 상호작용을 하여 細胞自滅死를 조절하는 것으로 알려져 있다[47,50].

子宮筋腫細胞에 紫河車를 1, 10 및 100 ㎎/㎖의 농도로 48시간 동안 처리한 후 細胞自滅死에 關聯된 遺傳子의 發現을 관찰한 결과, 대체로 紫河車 추출물 농도에 의존적으로 Bax 遺傳子는 發現이 증가되었으며 Bcl-2 遺傳子는 發現이 감소되는 경향을 나타냈다. 이 결과는 紫河車가 세포의 成長 및 細胞週期에 영향을 미치지 않을 뿐만 아니라, 세포사멸을 유발하는 遺傳子의 發現을 조절하여 子宮筋腫의 細胞自滅死를 유도함을 시사하는 결과이다.

Cyclin-D는 세포 주기 중 G1 phase를 조절하는 key regulator로, CDK4 또는 CDK6와 결합하여 CDK를 활성화시킴으로써 細胞週期를 시작하는데 중심적인 역할을 하게 된다. Cyclin D-CDK complex는 PCNA (proliferating cell nuclear antigen)와 결합하여 DNA polymerase를 활성화시킴으로써 DNA 복제를 증가시킨다[48].

VEGF는 혈관을 구성하는 상피세포의 분열을 촉진하여 혈관투과성을 증가시켜 혈관생성에 관여한다. VEGF는 일차 종양에 의해 생산되어 혈관 내피세포에만 작용하며, 내피세포에 대한 가장 특이적인 유사분열물질로 종양 혈관생성에 중요한 역할을 한다[51-53].

子宮筋腫細胞에 紫河車를 1, 10 및 100 ㎎/㎖의 농도로 48시간 동안 처리한 후 cyclin-D1과 VEGF의 發現을 조사한 결과, 모두 대조군에 비해 紫河車 추출물 처리군에서 증가되었다.

이상의 결과를 통합해 볼 때, 子宮筋腫細胞에 紫河車를 10㎎/㎖ 이하의 농도로 48시간 동안 처리한 경우, 세포의 증식이 없었으며 細胞週期에도 큰 영향이 없었다. 또한 모든 농도의 紫河車 추출물 처리군에서 대체적으로 농도 의존적인 細胞自滅死촉진이 관찰되어 紫河車의 子宮筋腫에 대한 成長抑制 기능을 확인할 수 있었으나, 細胞週期와 혈관 생성 遺傳子는 發現이 증가되어 상반된 결과를 나타내었다. 이는 紫河車의 子宮筋腫 成長抑制에 대한 다른 기전이 있음을 의미하는 결과로 해석 가능하며, 향후 이에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Ⅴ. 結　論

紫河車가 子宮筋腫細胞의 成長抑制와 細胞自滅死에 미치는 영향을 알아보기 위하여 紫河車 추출물을 각각 1, 10 및 100㎎/㎖의 농도로 처리한 후 細胞增殖, 細胞週期 및 細胞自滅死와 血管新生 關聯 遺傳子 發現을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 10㎎/㎖ 이하의 농도에서는 細胞活性이 대조군에 비하여 유의한 차이가 없었다.
2. 細胞週期에서는 S phase와 G2 phase가 10㎎/㎖ 이하의 농도에서 대조군에 비하여 큰 차이가 없었다.
3. 細胞增殖을 억제하는 Bax 遺傳子 發現은 대체로 농도 의존적으로 증가되었다.
4. 細胞增殖을 유발하는 Bcl-2 遺傳子 發現은 대체로 농도 의존적으로 감소되었다.
5. 細胞週期와 血管新生 關聯 遺傳子인 cyclin-D1과 VEGF의 發現은 증가되었다.

□ 투 고 일 : 2008년 4월 24일
□ 심 사 일 : 2008년 4월 29일
□ 심사완료일 : 2008년 5월 10일

參考文獻

1. 韓醫婦人科學 敎材編纂委員會. 韓醫婦人科學 (上). 서울: 도서출판 정담. 2001; 300-301, 305, 308-310.
2. 대한산부인과학회 교과서편찬위원회. 부인과학 (제3판). 서울: 칼빈서적. 1997; 175-183.
3. 위효선 등. 자궁근종 환자 41례에 대한 임상적 고찰. 대한한방부인과학회지. 2006;19(1):272-285.
4. 민병강 등. 복강경하 질식 전자궁적출술, 질식 전자궁적출술 및 복식 전자궁적출술의 임상적 비교. 대한산부인과학회지. 2006;49(8):1754-1763.
5. 고현주 등. 복강경하 자궁근종절제술 전 GnRH agonist 치료 효과. 대한산부인과학회지. 2006;49(7):1533-1539.
6. 문혜경 등. 거대 자궁근종 치료를 위해 자궁동맥 색전술을 시행한 1예. 대한산부인과학회지. 2002;45(11):2087-2092.
7. 조현희 등. 고주파 자궁근종용해술: 근종의 새로운 보존적 치료. 대한산부인과학회지. 2005;48(9):2166-2171.
8. 김석중 등. 七製香附丸이 자궁근종세포의 성장억제와 세포자멸사에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2007; 20(2):25-42
9. 배은경, 이경섭, 송병기. 子宮筋腫의 韓醫學的 接近. 대한한방부인과학회지. 1994;7(1):79-86.
10. 엄윤경 등. 자궁근종의 치료효과에 관한 임상적 연구. 동의생리병리학회지. 2006;20(4):1073-1077.
11. 이인선 등. 자궁근종 원인에 대한 DSOM 변수의 연관성분석-대조군: 임상시험 피시험자. 대한한방부인과학회지. 2006;19(4):159-173.
12. 박준식, 이보라, 임은미. 子宮筋腫 6例에 대한 임상경과 보고. 대한한방부인과학회지. 2005;18(4):230-241.
13. 정민영, 손영주. 자궁근종에 의한 전자궁적출술 적응증 환자의 보존적 한방치료 증례. 대한한방부인과학회지. 2006;19(4):256-268.
14. 譯解編注. 黃帝內經素問 (2). 서울: 여강출판사. 1995;296-297.
15. 이경섭, 송병기. 癥瘕治方에 關한 文獻考察. 대한한의학회지. 1982;3(2):54-62.
16. 許浚. 對譯東醫寶鑑. 서울: 법인문화사. 1999;1288.
17. 全國韓醫科大學 本草學共同敎材 編纂委員會. 本草學. 서울: 永林社.

2004;619-620.
18. 中藥大辭典 編纂委員會. 中藥大辭典. 서울: 도서출판 정담. 1998;3627-3631.
19. 崔金浩 등. 紫河車가 卵巢摘出로 骨多孔症을 유발한 흰쥐에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 1999;12(2):75-100.
20. 김로사 등. 紫河車가 老化생쥐의 生殖能力에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2002;15(2):56-69.
21. 박대순 등. 紫河車가 수컷생쥐의 生殖能力에 미치는 影響. 대한한방부인과학회지. 2004;17(2):1-10.
22. 장소영 등. 자하거 약침의 월경통에 대한 효과. 대한침구학회지. 2005;22(6):85-92.
23. 김기철, 김정구, 이진용. 성선자극호르몬 유리호르몬 협동체로 전처치된 자궁근종내 인슐린양 성장인자 및 그 결합단백의 양상에 관한 연구. 대한내분비학회지. 1997;12(3):364-375.
24. 김정구 등. 자궁근종조직내 인슐린유사 성장인자 (IGF)-Ⅰa, IGF-Ⅰb, IGF-Ⅱ 전령리보핵산 발현양상. 대한산부인과학회지. 1999;42(4):777-783.
25. 김성수, 김정구, 이진용. 에스트로겐이 인간의 자궁근종조직과 정상 자궁근조직내 인슐린유사 성장인자 결합단백질들의 전령리보핵산 발현에 미치는 영향. 대한산부인과학회지. 1998;41(1):17-27.
26. Kim JG et al. Decreased expression of Mac25 mRNA in uterine leiomyomata compared with adjacent myometrium. Am J Reprod Immunol. 2000;43(1):53-57.
27. 임경실, 김정구. 자궁근종조직 및 정상자궁근조직에서 에스트로겐 수용체 알파, 베타 및 인슐린 유사 성장인자 결합단백질 관계 펩티드-1 전령리보핵산의 발현양상. 대한산부인과학회지. 2002;45(3):391-397.
28. 최영준, 허주엽. 자궁근종의 조직학적 발생부위 및 크기, 자궁선근증의 합병유무에 따른 임상 양상 비교. 경희의학. 2005;21(2):189-194.
29. Marshall LM et al. A prospective study of reproductive factors and oral contraceptive use in relation to the risk of uterine leiomyomata. Fertil Steril. 1998;70(3):432-439.
30. 이영심 등. 자궁근종의 동맥색전 치료술 후 임상적 반응에 대한 평가. 대한산부인과학회지. 2001;44(1):43-47.
31. 宋炳基. 漢方婦人科學. 서울: 杏林出版. 1994;249-262.
32. 문나영, 김동철, 백승희. 血府逐瘀湯이 자궁근종세포의 증식억제와 Apoptosis 관련 유전자 발현에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2006;19(2):186-198.
33. 백승희, 김동철. 失笑散이 자궁근종세포의 증식억제와 MAP Kinase 활성 및 Cell Apoptosis에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2004;17(1):29-42.
34. 이영림, 백승희. 少腹逐瘀湯이 子宮筋腫細胞의 成長抑制와 MAP Kinase 活性 및 Cell Apoptosis에 미치는 影響. 대한한방부인과학회지. 2003;16(2):1-17.
35. 김윤근 등. 蟠葱散이 子宮筋腫細胞의 死滅과 Cell Apoptosis에 미치는 影響. 대한한방부인과학회지. 2003;16(2):34-44.
36. 전미혜 등. 五積散이 子宮筋腫細胞의

死滅과 Cell Apoptosis에 미치는 影響. 대한한방부인과학회지. 2003;16(2):45-55
37. 이인호 등. 桂枝茯苓丸이 자궁근종 세포의 증식 억제에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2002;15(2):12-24.
38. 김소연, 백승희. 膈下逐瘀湯이 子宮筋腫細胞의 增殖과 MAP Kinase 活性 및 Cell Apoptosis에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2002;15(4):1-16.
39. 이화경, 김동철, 백승희. 鷄血藤이 子宮筋腫細胞의 增殖抑制 및 세포자멸사에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2006;19(3):135-149.
40. 이희재, 김동철, 백승희. 玄胡索이 자궁근종세포의 증식억제와 Apoptosis 관련 유전자 발현에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2006;19(2):214-225.
41. 이수진, 김동철, 백승희. 益母草가 자궁근종세포의 증식억제와 Apoptosis 관련 유전자 발현에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2006;19(3):1-12.
42. 박창건, 김동철, 백승희. 三稜이 자궁근종세포의 증식억제와 세포자멸사 관련 유전자 발현에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2006;19(2):199-213.
43. 권차남, 이태균, 김동일. 鬼箭羽의 인간 자궁근종 세포에서 미토콘드리아 경로를 통한 산화제로서 apoptosis 유도작용에 관한 연구. 대한한방부인과학회지. 2005;18(3):67-76.
44. 김민성 등. 半支蓮의 Bcl-2 발현감소를 통한 자궁근종세포 성장억제에 미치는 효과. 대한한방부인과학회지. 2004;17(4):82-90.
45. 양영필 등. 大黃이 子宮筋腫細胞의 細胞自滅死에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2004;18(1):200-205.
46. 김동철 등. 香附子가 子宮筋腫細胞의 成長抑制와 MAP Kinase 活性 및 Cell Apoptosis에 미치는 影響. 대한한방부인과학회지. 2003;16(2):18-33.
47. 정병천 등. 魚腥草가 자궁근종 세포의 성장억제와 세포자멸사에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2007;20(3):1-12.
48. 김승철. Cell cycle and Apoptosis. 이화여자대학교 의과대학 산부인과교실 춘계심포지엄. 1998;23-42.
49. 서울대학교 의과대학. 세포생물학. 서울: 서울대학교출판부. 1995;1-9, 161-165.
50. Erel CT et al. Apoptosis in the placenta of pregnancies complicated with IUGR. Int J Gynaecol Obstet. 2001;73(3):229-235.
51. Weidner N et al. Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast carcinoma. N Engl J Med. 1991;324(1):1-8.
52. Zhang HT et al. Enhancement of tumor growth and vascular density by transfection of vascular endothelial cell growth factor into MCF-7 human breast carcinoma cells. J Natl Cancer Inst. 1995;87(3):213-219.
53. 박성재 등. 자궁경부암에서의 COX-2와 VEGF 발현에 관한 연구. 대한산부인과학회지. 2004;47(5):901-907.