

黃芪가 *in vitro*에서 子宮筋腫細胞에 미치는 影響

경희대학교 한방 부인과교실

박준규, 이진무, 이창훈, 조정훈, 장준복, 이경섭

ABSTRACT

Effects of *Astragalus membranaceus* Extract on Cell Cycle and Apoptosis of Human Leiomyoma Cell

Jun-Gyou Park, 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 *Astragalus membranaceus* extract solution on cell cycle regulation and apoptosis of human leiomyoma cell.

Methods: The leiomyoma cell of patients was used in the study, and we administered the extract solution of *Astragalus membranaceus* concentration at 1, 10mg/ml to the leiomyoma cell for 48 hours. We used flow cytometry and western blotting to confirm cell cycle and apoptosis.

Results: In flow cytometry, G1 phase of the 1mg/ml and 10mg/ml group was shortened and S phase of the 1mg/ml and 10mg/ml group was increased. Cyclin D1 expression increased in 1, 10mg/ml group. Bcl-2 expression decreased in 1, 10 mg/ml groups than control group. And Bax expression that regulated cell apoptosis more increased in 1, 10mg/ml group than control group. VEGF expression rised in higher *Astragalus membranaceus* concentration group.

Conclusion: This study suggest that *Astragalus membranaceus* might induce cell apoptosis of leiomyoma cell and shorten cell cycle. And *Astragalus membranaceus* would not have the regulation effect of cell cycle.

Key Words: *Astragalus membranaceus*, leiomyoma, apoptosis, cell cycle

I. 緒 論

子宮筋腫은 子宮에서 발생하는 종양 중에서 가장 흔한 양성질환으로서 가입 연령에서 20% 정도가 있는 것으로 추정된다. 이는 卵巢機能이 활발할 때 가장 잘 발생하며, 閉經期 이후에 發生하는 일은 거의 없고 既存의 子宮筋腫도 위축되기 때문에 estrogen 依存性 腫瘍으로 생각된다¹⁾.

박 등²⁾에 의하면 子宮筋腫으로 진단 받은 患者 중 44.7%는 수술이 이루어졌고, 0.8%에서는 약물치료가 이루어졌다. 이 질환의 치료에 많은 여성들이 정신적, 정서적 및 문화적 이유에서 자궁적출술을 꺼려하며 젊은 여성이나 임신을 원하는 경우 자궁을 보존하며 치료하길 원한다. 최근에는 子宮筋腫溶解術^{3,4)}이나 子宮動脈 塞栓術을 이용한 治療⁵⁾ 등 最小限의 侵襲을 추구하는 방향으로도 研究가 進行되고 있다.

한의학에서는 子宮筋腫을 여성생식기 질환인 癥瘕의 범주로 보고 있으며⁶⁾, 그 원인으로는 外感寒邪, 痰飲, 食積, 死血 및 正氣虛 등과 관련되어 있다고 인식하고, 病因에 따라서 活血, 利氣, 消積, 消痰 및 補氣血의 治法을 사용하였다⁷⁾. 活血, 利氣 및 消積과 관련된 研究로는 桂枝茯苓丸⁸⁻¹⁴⁾ 등의 處方이나 鷄血藤¹⁵⁻¹⁹⁾ 등의 藥物이 子宮筋腫細胞의 增殖 抑制와 遺傳子 活性에 미치는 影響에 대한 報告가 있었으나 補氣血 治法에 대한 연구는 없었다.

補氣藥인 黃芪는 性味が 溫, 無毒하고 微甘한 藥材로 氣血虛證을 補하는 效能이 있어서²⁰⁾ 항산화효과²¹⁾, 간 기능 보호²²⁾, 면역기능강화²³⁻²⁵⁾ 및 항암효과²⁶⁾에 대한

연구보고가 있었고, 최근 Zhang 등²⁷⁾은 황기의 estrogen 유사효과를 보고하였다.

이에 저자는 黃芪가 子宮筋腫에 미치는 影響을 알아보기 위하여, 子宮筋腫細胞에 黃芪抽出物을 48시간 동안 처리하여 細胞週期를 분석하였고, 細胞週期和 관련된 cyclin-D1 유전자, 細胞自滅死와 관련된 Bax와 Bcl-2 遺傳子 및 VEGF의 發顯²⁸⁾을 관찰하여 보고하는 바이다.

II. 實 驗

1. 材 料

1) 細 胞

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

2) 藥 材

공과에 속하는 다년생 본초인 黃芪 (*Astragalus membranaceus* BUNHE)의 뿌리를 건조한 것을 경희대학교 한의과대학 부속한방병원 약재과에서 구입하여 사용하였다.

2. 方 法

1) 細胞의 分離와 培養

멸균 냉동된 子宮筋腫 조직을 약 1mm로 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 8mg의 collagenase II가 포함된 Dulbecco's modified Eagle's

medium(이하 DMEM; Gibco Laboratories, USA) 12.5ml에 넣어 37°C에서 2~3시간 동안 반응시켰다. 이를 100 μ m 멸균필터로 여과하고 500G에서 5분간 원심분리한 후, 1% antibiotic-antimycotic solution이 포함된 DMEM으로 2~3회 세척하였다. 세척된 세포 5 \times 10⁵개를 1% antibiotic-antimycotic solution과 10% fetal bovine serum (Gibco Laboratories, USA)이 포함된 DMEM으로 10cm tissue culture dish (Falcon, USA)에서 37°C, 5% CO₂로 배양 하였으며, 실험 기간 동안 배지는 3일 마다 교환하였다.

2) 檢液 製造 및 實驗群 設定

黃芪 500g에 증류수 2,000ml를 가하여 2시간 동안 환류 추출한 다음 여과하였다. 여과한 잔사에 증류수 2,000ml를 가하여 다시 2시간 동안 환류 추출하는 과정을 거쳐 여과한 다음, 이전 여액과 합하여 감압농축기 (Eyela Co., Model NE-1, Japan)로 증발 농축한 뒤, 동결건조기 (Eyela Co., Model FD-1, Japan)로 동결 건조하여 최종 抽出物 141g을 얻었다. 檢液은 黃芪 抽出物을 멸균 증류수에 1mg/ml 및 10mg/ml의 농도로 용해하여 실험군으로 사용하였으며, 대조군은 무처리군으로 설정하였다.

3) Cell cycle analysis

1 \times 10⁶농도로 조정된 子宮筋腫細胞에 1 mg/ml 및 10mg/ml의 檢液을 처리한 후 48시간 배양하고 8,000rpm으로 5분간 원심분리 하였다. 다음날 8,000rpm으로 4°C, 5분간 원심 분리 후 상층액을 버리고 PBS 1ml로 2회 세척하였다. 상층액 제거 후 200 μ l PBS와 2 μ l RNase (5mg/ml)를 처리하고 5~10분간 반응시켰다. 2 μ l propidium iodide (5mg/ml)를 처리

후 37°C에서 15분에서 20분간 반응시키고, FACS tube에 담아 flow cytometry (Bd FACS vantage TMSE, BD)를 이용하여 cell cycle을 분석하였다.

4) Protein isolation

1mg/ml 및 10mg/ml의 檢液을 子宮筋腫細胞에 처리 후 scraper (Corning, UK)로 수집한 다음 細胞가 담겨있던 배지와 함께 1,500rpm에서 5분간 원심분리 하여 상층액을 버린 뒤 2ml cold PBS로 2회 세척하였다. 단백질 분리에는 PRO-PREP protein extraction solution (iNtRON Biotechnology, Korea)이 이용되었으며, 200 μ l의 buffer를 첨가하여 20분 lysis 후 4°C, 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 465nm에서 595nm 단백질의 吸光度를 측정하였다.

5) Western blotting

정량된 단백질에 lysis buffer와 sample buffer (60mM tris; pH6.8, 10% glycerol, 2% Sodium dodecyl sulfate (이하 SDS), 0.01% bromophenol blue)를 섞어 protein 양을 같게 한 후 100°C 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 mix와 3차 증류수, 1M tris (pH6.8), 10% SDS, 당일 제조된 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, 20μg으로 정량한 단백질 10μℓ를 loading하고 100V로 약 1시간 running하였다. 1ℓ에 tris-base 3.03g, glycine 14.63g, methanol 200ml로 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 develop하여 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.

III. 結 果

1. 細胞週期에 미치는 影響

子宮筋腫細胞를 黃芪檢液으로 48 시간 동안 처리한 후 細胞週期를 분석한 결과, G1 phase는 1mg/ml군은 75.95% 및 10mg/ml군은 76.02%로 나타나 대조군의 83.57%에 비하여 모두 감소하였다(Fig. 1).

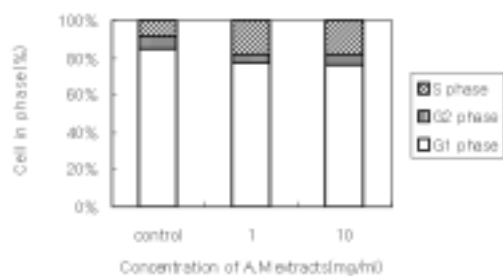


Fig. 1. Cell cycle analysis of human leiomyoma cells treated with extract of *Astragalus membranaceus* for 48 hours

2. Cyclin-D1에 미치는 影響

子宮筋腫細胞를 黃芪檢液으로 48 시간 동안 처리한 후 cyclin-D1을 조사한 결과, 대조군에 비해 1mg/ml군 및 10mg/ml군 모두 發現이 증가되었다(Fig. 2).

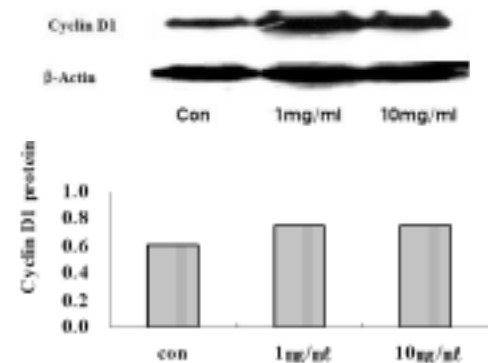


Fig. 2. Western blot analysis of cyclin-D1 gene expression in human leiomyoma cells treated *Astragalus membranaceus* extracts for 48 hours

3. Bax 및 Bcl-2에 미치는 影響

子宮筋腫細胞를 黃芪檢液으로 48 시간 동안 처리한 후 Bax 및 Bcl-2 유전자를 분석한 결과, Bax 유전자는 대조군에 비하여 모두 증가하였으며 1mg/ml군에서 현저한 증가를 나타내었다. Bcl-2 유전자는 대조군에 비해 모두 감소하였으며, 특히 10mg/ml군에서 현저한 감소를 나타내었다(Fig. 3).

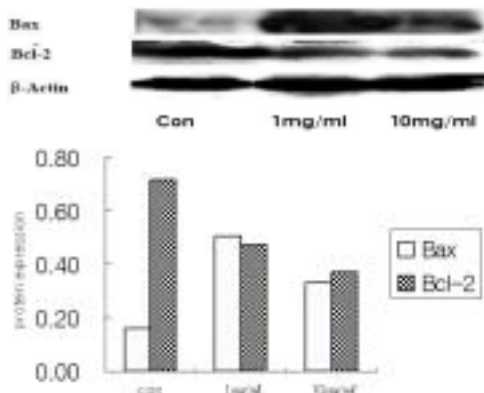


Fig. 3. Western blot analysis of Bax and Bcl-2 gene expression in human leiomyoma cells treated *Astragalus membranaceus* extracts for 48 hours

4. VEGF에 미치는 影響

子宮筋腫細胞를 黃芪檢液으로 48 시간 동안 처리한 후 VEGF를 조사한 결과, 대조군에 비해 1mg/ml군 및 10mg/ml군 모두 發現이 증가되었다(Fig. 4).

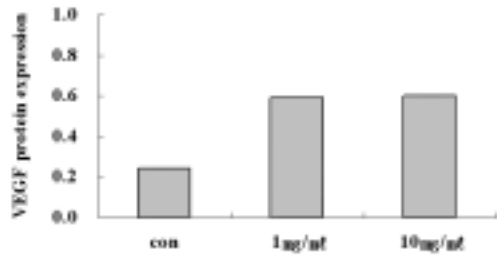
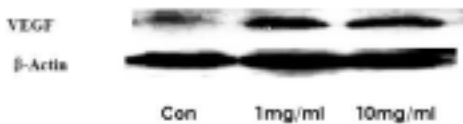


Fig. 4. Western blot analysis of VEGF gene expression in human leiomyoma cells treated with *Astragalus membranaceus* extracts for 48 hours

IV. 考 察

子宮筋腫은 30세 이후에 發生頻度가 높아지는 질환으로¹⁾ 임상통계학적 研究에 의하면 40-49세가 가장 많으며, 주요 동반증상은 疼痛, 異常子宮出血 및 眩氣症 등의 順으로 나타난다²⁾. 閉經期 以後에는 새로 發生하는 경우가 거의 없으며 既存 筋腫도 萎縮되는 것으로 보아 estrogen 依存性 腫瘍으로 추측하고 있을 뿐 원인이 명확하게 밝혀진 바가 없다⁶⁾. 다만 年齡, 遺傳性, 호르몬 및 人種 등이 關여하고 있다고 알려져 있으며 症狀, 同伴疾患 및 檢査所見 등 임상적 자료도 학자들 간에 다양하게 보고되고 있다.

박 등²⁾의 자궁근종 치료방법에 대한 臨床統計研究에 의하면 手術 44.7%, 藥物治療 0.8% 및 追跡觀察이 55.0% 이었다. 하지만 대부분의 여성들은 자궁적출술 같은 수술요법은 꺼려하며, 젊은 女性이나 妊娠을 원하는 경우는 子宮을 保存하기를 위하여 非手術的 治療方法인 프로게스테론제제 및 GnRh-agonist²⁹⁾와 항에스트로젠 및 프로게스트로젠 제제인 R-2323, Danazol 및 RU486³⁰⁾의 호르몬제제 등이 적은 비율로 사용되고 있으나

治療效果가 적고 副作用이 있기 때문에 補助的으로 사용되고 있다.

韓醫學에서는 積聚, 癥瘕, 痰癖, 痞塊, 腸覃, 石瘕 및 血蟲 등이 복강내 종양과 關聯이 있으며 이중 女性의 生殖器와 그 附屬器에 발생하는 腫瘍疾患을 總稱하여 癥瘕라고 한다³¹⁾. 癥瘕는 크게 風寒, 食積, 瘀血 및 七情이 主要 原因으로 認識되어, 活血, 破瘀, 行氣, 化痰 및 補氣養血 등의 治法을 사용하며, 治方으로 桂枝茯苓丸, 香稜丸, 開鬱二陳湯 및 十全大補湯 등을 이용한다³²⁾.

神農本草經 上品에 최초로 言及된 黃芪는 補氣升陽, 固表止汗, 托毒排膿 및 利水消腫의 効能을 지닌 代表的인 補氣藥으로 氣衰血虛로 인한 癰疽不潰, 潰後不斂, 脫肛 및 崩漏 등에 사용된다^{33,34)}.

黃芪의 주된 化學 성분은 2',4'-dihydroxy-5'6'-dimethoxy-isoflavone, choline 및 betaine 등이다. 그 藥理적 작용은 免疫機能促進, 抗體生産促進, 肝機能保護, 血球細胞增加, 心臟收縮機能強化, 冠狀動脈 및 腎臟血管 擴張, 利尿作用, 鎮靜作用을 지니고 있어²²⁾, *in vitro*에서 抗體形成, cytotoxic T cell의 活性, 單核細胞에 의한 IL-1 增加 등의 보고가 있으며, *in vivo*에서도 임과질의 CD4 T cell의 비율과 抗體形成을 增加시켰다는 結果들이 報告되었다²³⁻²⁵⁾. 손 등³⁵⁾은 항암실험에서는 각종 암 치료에 사용되는 放射線療法와 化學療法의 副作用에서 초래된 細胞損傷을 완화시키는 效果가 있다³⁵⁾.

子宮筋腫과 關聯된 研究는 대부분 瘀血을 重要한 原因으로 認識하여 活血祛瘀 및 軟堅散結 등의 治法을 위주로 연구하였고⁷⁾, 瘀血除去를 위한 보조제나 養精則積自制 原理에 의한 補氣血劑 사

용에 대한 연구는 없었다.

이에 저자는 黃芪가 子宮筋腫에 미치는 影響을 알아보기 위하여, 子宮筋腫細胞에 黃芪抽出物을 48시간 동안 처리하여 細胞週期를 분석하였고, 細胞週期和 關聯된 cyclin-D1 유전자, 細胞自滅死와 關聯되는 Bax와 Bcl-2 遺傳子 및 VEGF의 發顯²⁸⁾을 관찰하였다.

細胞週期는 네 가지 phase로 나누어져 있는데, 염색체의 복제가 일어나는 S phase, 염색체의 응축과 분리가 일어나는 M phase, M phase와 S phase 사이에 존재하는 G1 phase 그리고 S phase와 M phase 사이에 있는 G2 phase로 구분된다³⁶⁾. 세포주기의 주요 조절점은 G1 phase의 후반에 있는데, G1 phase에서 S phase로의 진행을 통제하여 apoptosis가 일어나면 G1 phase에서 S phase로 넘어가지 못하고 sub G1이라고 불리는 apoptosis단계에 머물러 더 이상 발전하지 못하는 세포의 비율이 늘어난다³⁷⁾.

자궁근종세포에 대한 活血, 利氣 및 消積과 關聯된 처방과 약물에 대한 研究에서 血府逐瘀湯¹³⁾, 鷄血藤¹⁵⁾, 益母草¹⁶⁾ 및 魚腥草¹⁹⁾ 등은 sub G1 phase를 연장시켜 S phase로의 이행을 줄이는 效果를 보고한 바 있다. 이번 실험에서는 子宮筋腫細胞에 黃芪檢液을 48 시간 동안 처리한 후 細胞週期를 분석한 결과 G1 phase는 대조군에 비하여 1mg/ml군 및 10mg/ml군 모두 감소하였고, S phase는 대조군에 비해 1mg/ml군 및 10mg/ml군 모두 증가하였다. 이는 sub G1이라고 불리는 apoptosis 단계를 거치지 않고 S phase로 진행하여 세포주기가 짧아진 것을 확인할 수 있었다.

Cyclin-D1은 細胞週期 중 G1 phase에

發顯이 증가되며 CKIs에 의한 Cdk의 활성 억제를 극복하여 S phase로 진행을 할 수 있게 하는 단백질이며³⁸⁾ 과발현되는 경우에 G1 phase를 가속화하는 효과가 있어 細胞週期를 단축하게 된다³⁹⁾.

이 등¹⁸⁾은 玄胡索이 cyclin-D1을 증가시키나 세포주기 분석에서 이 실험과는 반대로 G1 phase를 증가시키므로 큰 의미가 없다고 보고하였으나, 子宮筋腫細胞를 黃芪檢液에서 48 시간 동안 처리한 후 cyclin-D1은 대조군에 비해 모두 發現이 증가되었다. 이는 세포주기 분석 결과와 일치하고 있다.

체내의 종양억제 유전자 p53은 종양세포의 apoptosis를 유발한다. p53이 활성화되면 Bax 유전자를 활성화시키는데, Bax는 apoptosis로부터 細胞를 보호하는 Bcl-2의 작용을 억제하여 Bcl-2 mRNA의 발현이 감소된다. 그러므로 Bax/Bcl-2 비율의 증가는 p53 의존적 apoptosis를 짐작 할 수 있다⁴⁰⁾.

子宮筋腫細胞를 黃芪檢液에서 48 시간 동안 처리한 후 細胞自滅死를 촉진하는 Bax 遺傳子는 대조군에 비하여 모두 증가하였으며, 細胞自滅死를 억제하는 遺傳子인 Bcl-2 遺傳子는 대조군에 비해 모두 감소하였다. 子宮筋腫細胞에 대한 七製香附丸¹²⁾과 魚腥草¹⁹⁾ 등의 연구에서도 bcl-2 遺傳子の 발현을 감소시켜 자궁근종세포의 성장을 억제하는 보고가 있었고, 이 실험에서도 Bax/Bcl-2의 比率를 증가시켜 p53에 의한 細胞自滅死를 촉진함으로써 자궁근종세포의 성장과 증식을 억제하는 결과를 초래할 수 있을 것으로 판단된다.

VEGF는 일차 종양에 의해 생산되어 혈관 내피세포에만 작용하며 내피세포에

대한 가장 특이적인 유사분열물질로 종양 혈관생성에 중요한 역할을 한다⁴¹⁾. 子宮筋腫細胞를 黃芪檢液으로 48 시간 동안 처리한 후 VEGF는 대조군에 비해 모두 發現이 증가되었다.

이 실험 결과를 종합하면 이전의 活血, 利氣 및 消積과 관련된 研究에서는 細胞週期 分析과 細胞自滅死 유전자 분석이 子宮筋腫細胞의 증식을 억제하는 방향으로 일관되게 보고되었으나, 黃芪檢液 처리 후 子宮筋腫細胞에 미치는 영향을 관찰한 결과, 細胞週期 分析, cyclin-D1 유전자 및 VEGF 발현의 결과는 子宮筋腫細胞의 증식을 촉진하는 결과를 보였고 이에 반해 Bax/Bcl-2의 比率는 증가하여 p53에 의한 細胞自滅死를 촉진함으로써 자궁근종세포의 성장과 증식을 억제하는 결과를 보여 일관성 있게 나타나지 않았다.

위의 결과들은 통상적으로 경구 투약하였을 때 細胞에 흡수되는 농도보다도 매우 고농도로 실험이 진행되었다. 이번 黃芪에 대한 연구를 보면 *in vitro*와 *in vivo*에서 항암효과를 갖는다는 기존의 연구와 배치되는 점이 있어 추후에 보다 진행된 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

V. 結 論

黃芪가 子宮筋腫에 미치는 影響을 알아보기 위하여 黃芪抽出物을 1mg/ml 및 10mg/ml 濃度로 子宮筋腫細胞에 처리한 후 細胞週期の 變化, cyclin-D1, Bax, Bcl-2 및 VEGF 發顯의 變化를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. G1 phase는 대조군에 비하여 모든 투여군에서 감소하였다.
2. Cyclin-D1은 대조군에 비하여 모든 투여군에서 발현이 증가하였다.
3. Bax 유전자는 대조군에 비하여 모든 투여군에서 발현이 증가하였으며, Bcl-2유전자는 대조군에 비하여 모든 투여군에서 감소하여 Bax/Bcl-2 비율은 증가하였다.
4. VEGF는 대조군에 비하여 모든 투여군에서 발현이 증가하였다.

- 투 고 일 : 2008년 4월 25일
- 심 사 일 : 2008년 4월 29일
- 심사완료일 : 2008년 5월 10일

參考文獻

1. 대한산부인과학회 교과서편찬위원회. 부인과학. 서울: 칼빈서적. 1997;175-183.
2. 박정규 등. 자궁근종에 관한 임상통계학적 연구. 대한산부인과학회지. 2005; 48(2):436-445.
3. 황인택 등. 자궁근종의 보존적 치료를 위한 질식 고주파 자궁근종 용해술. 대한산부인과학회지. 2007;50(2):337-344.
4. 이정재 등. 자궁근종의 최소침습적 치료: 복강경을 이용한 고주파 자궁근종 용해술. 대한산부인과학회지. 2006;49(6):1212-1218.
5. 최정범 등. 양측 자궁동맥 색전술을 이용한 자궁근종의 치료. 대한산부인과학회지. 2006;49(11):2310-2315.
6. 한의부인과학 편찬위원회. 한의부인과학(상). 서울: 도서출판 정담. 2002;303-313.
7. 이경섭, 송병기. 癥瘕病態에 관한 문헌고찰. 서울: 동양의학연구원. 1980;5:46-50.
8. 이인호 등. 桂枝茯苓丸이 자궁근종 세포의 증식 억제에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2002;15(2):12-24.
9. 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.
10. 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):56-67.
11. 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.
12. 김석중 등. 七製香附丸이 자궁근종세포의 성장억제와 세포자멸사에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2007; 20(2):25-42.
13. 문나영 등. 血府逐瘀湯이 자궁근종세포의 증식억제와 apoptosis 관련 유전자 발현에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2006;19(2):186-198.
14. 백승희, 김동철. 失笑散이 자궁근종세포의 증식억제와 MAP kinase 활성화 및 cell apoptosis에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2004;17(1):29-42.
15. 이화경 등. 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.
16. 이수진 등. 益母草가 자궁근종세포의 증식억제와 apoptosis 관련 유전자 발현에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2006;19(3):1-12.
17. 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. 대한한

- 방부인과학회지. 2003;16(2):18-33.
18. 이희재 등. 玄胡索이 자궁근종세포의 증식억제와 apoptosis 관련 유전자 발현에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2006;19(2):214-225.
 19. 정병천 등. 魚腥草가 자궁근종 세포의 성장억제와 세포자멸사에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2007;20(3):1-12.
 20. 한의과대학 본초학 편찬위원회. 本草學. 서울: 영림사. 1994;534-536.
 21. 이춘영, 이해익. 황기 추출물의 항산화 효과. 강원대학교 농업과학연구소 논문집. 2004;15:103-110.
 22. 백남인 등. 황기의 간기능 보호 성분. 생약학회지. 1996;27(2):111-116.
 23. 송봉근 등. 黃芪가 免疫細胞의 기능에 미치는 영향. 대한본초학회지. 1998;13(2):115-128.
 24. 신상우 등. 대표적 보기약인 인삼, 당삼, 황기, 백출, 산약 물추출액의 면역조절효과 비교. 동의생리병리학회지. 2004;18(4):1140-1146.
 25. 배항 등. 補氣藥物인 人參, 黃芪, 白朮, 甘草의 물 추출액이 생쥐면역세포의 cytokine분비에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2005;19(1):69-74.
 26. Cho WC, Leung KN. *In vitro* and *in vivo* anti-tumor effects of *Astragalus membranaceus*. Cancer Lett. 2007;252(1):43-54.
 27. Zhang CZ et al. *In vitro* estrogenic activities of Chinese medicinal plants traditionally used for the management of menopausal symptoms. J Ethnopharmacol. 2005;98(3):295-300.
 28. Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? J Natl Cancer Inst. 1990;82(1):4-6.
 29. 민응기 등. 자궁근종 치료에 있어 GnRH Agonist(D-Trp-6-LHRH)의 효용에 관한 연구. 대한산부인과학회지. 1991;34(5):673-682.
 30. Murphy AA et al. Regression of uterine leiomyomata in response to the antiprogesterone RU486. J Clin Endocrinol Metab. 1993;76(2):513-517.
 31. 송병기. 韓方婦人科學. 서울: 행림출판사. 1984;249-256.
 32. 배은경 등. 子宮筋腫의 韓醫學的 接近. 대한한방부인과학회지. 1994;7(1):79-86.
 33. 新文豐出版公司. 新編中藥大辭典(3) 臺北: 新文豐出版公司. 1990;2102-2106.
 34. 신민교. 원색임상본초학. 서울: 남산당. 1992;169-171.
 35. 손윤희 등. 하고초와 황기 약침액이 발암 진행과정에 미치는 영향. 생명과학회지. 2001;11(4):335-339.
 36. 최영현, 최혜정. 세포주기조절에 관한 최근 연구. 생명과학회지. 2001;11(4):362-370.
 37. 서울대학교 의과대학. 세포생물학. 서울: 서울대학교출판부. 1995;1-9, 161-165.
 38. Baldin V et al. Cyclin D1 is a nuclear protein required for cell cycle progression in G1. Genes Dev. 1993;7(5):812-821.
 39. Quelle DE et al. Overexpression of mouse D-type cyclins accelerates G1 phase in rodent fibroblasts. Genes Dev. 1993;7(8):1559-1571.
 40. 이수재. Cell Cycle, cell death and apoptosis. 제 23차 대한핵의학회 연구교육. 2002;57-69.

41. 박성재 등. 자궁경부암에서의 COX-2
와 VEGF 발현에 관한 연구. 대한산

부인과학회지. 2004;47(5):901-907.