

HeLa cell에서 山藥의 항산화 작용을 통한 세포보호효과에 대한 연구

*동국대학교 한의과대학 부인과학교실, **동국대학교 자연과학대학 생물학과.

양정민*, 전영준*, 남주영*, 손미영**, 성정석**, 김동일*

ABSTRACT

The Cell Protective Effects of *Dioscoreae Rhizoma* by Antioxidant Activities on HeLa Cells

Jeong-Min Yang*, Yung-Joon Jun*, Ju-Young Nam*, Mi-Young Son**,
Jung-Suk Sung**, Dong-Il Kim*.

*Dept. of Ob&Gy, College of oriental Medicine, Donggguk University

**Dept. of Biology. College of Science, Dongguk University

Purpose: This study is to examine antioxidant activities of *Dioscoreae Rhizoma* on HeLa cell

Methods: Aqueous extract was used to treat HeLa cell with different concentrations treated with water or MeOH extract of *Dioscoreae batatas* (0, x10, x20, x40, x80). The MTT reduction assay and flow cytometric analysis was employed to quantify the differences in cell activity and viability.

Results: Co-treatment with H₂O₂ and *Dioscoreae batatas* extracts reduced apoptosis of HeLa cells by decreasing G2/M arrest. *Dioscoreae batatas* extracts increased the survival rate of cells treated with cisplatin and *Scutellaria barbata*.

Conclusion: Our results suggest that *Dioscoreae Rhizoma* extracts induce cell protective effect by antioxidant activities.

Key Words: *Dioscoreae Rhizoma*; HeLa cell; antioxidant.

I. 서 론

인간을 포함한 호기성 호흡을 하는 생명체는 정상적인 에너지 대사 과정과 같은 내부요인에 의해 또는 흡연, 스트레스, 그리고 여러 가지 환경오염과 같은 외부요인으로 인하여 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)을 생성한다¹⁾. ROS에는 superoxide radical($-O_2$), hydrogen peroxide(H_2O_2) 및 hydroxyl radical($-OH$) 등의 종류가 있다. 이는 정상적인 세포 대사의 과정 중에 발생하는 부산물이지만 과도하게 생성되면 산화과정과 같은 치명적인 반응을 유발하여 세포의 생존에 중요한 DNA등의 세포 구조를 파괴하게 된다²⁾. 따라서 ROS는 apoptosis의 과정에서 중요한 요소로 작용한다^{3,4)}. 또한 적은 양의 산화물질은 신호전달기전을 일으키기 때문에 초기 암을 비롯한 다양한 질병뿐만 아니라 노화의 유발에 관여하기도 한다⁵⁻⁸⁾. 이러한 ROS의 산화작용을 억제하는 효능이 있는 것을 항산화제라 한다. 최근에는 다양한 한약재의 항산화작용에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 이러한 항산화 작용을 통한 노화, 심혈관계질환, 중양 등의 치료에 대한 연구결과도 보고되고 있다⁹⁻¹¹⁾.

山藥(*Dioscoreae Rhizoma*)은 마과에 속한 多年生草本인 마(*Dioscorea batatas* Thunberg) 또는 참마(*Dioscorea japonica* Thunberg)의 뿌리줄기를 건조하여 사용하는 약재로 味甘性溫하고, 健脾·補肺·固腎·益精의 효능이 있다¹²⁾. 山藥이나 山藥의 주요 성분들의 약리작용으로는 혈당강하 효과¹³⁾, 콜레스테롤 저하작용¹⁴⁾, 비만 조절¹⁵⁾, 山藥의 주요 성분인 methyl protodioscin, methyl protoneogracillin,

gracillin, dioscin 등의 인간암세포에 대한 항종양효과¹⁶⁻¹⁸⁾, 면역조절효과¹⁹⁾, phospholipase A₂ 저해작용²⁰⁾, 항진균성 및 세포독성의 활성, 골다공증 억제효과²¹⁾ 등이 보고되고 있다.

최근 전 등²²⁾은 山藥이 농도에 따라 HeLa cell의 증식과 감소를 동시에 유발하는 효과가 있으며, 항산화 작용을 통한 세포보호기능이 있음을 보고하였다. 남 등²³⁾은 신경세포주인 PC12 cell에서 山藥이 H_2O_2 의 작용에 대한 항산화 작용을 나타냄을 보고하였고, 김²⁴⁾은 생식세포의 일종인 GC-1 spg cell에서의 山藥의 항산화효과를 보고하였다.

이에 본 연구에서는 HeLa cell에 여러 가지 산화적 스트레스와 함께 山藥을 동시 처리하였을 때의 HeLa cell의 cell cycle의 변화와 cisplatin 및 半枝蓮과 山藥을 동시 처리하였을 때의 HeLa cell의 생존율의 변화를 확인하였다. 이와 같은 일련의 실험을 통하여 얻어진 결과를 이 논문을 통해 발표하고자 한다.

II. 연구대상 및 방법

1. 재료 및 추출물의 제조

규격 한약품인 山藥(*Dioscorea batatas* Thunberg)과 半枝蓮(*Scutellaria barbata* Don)은 동국대학교 한방병원(Ilsan, Korea)을 통해 구입한 후 정선하여 사용하였다. 50 g의 한약재를 각각 2시간동안 열수추출과 메탄올추출로 각각 추출하여 AVANTEC TOYO #2 filter로 여과하여 불용성 성분은 제거하고 분말로 냉동 건조 하였다. 추출물을 PBS에 녹여 희석한 후에 pH 7로 조정하고 0.25 μ m 필터

(Nalgene, USA)로 소독하여 -20°C 에서 보관하였다.

Cisplatin은 동국대학교 병원(Ilsan, Korea)을 통하여 구입하였다. Fluorescent mounting medium (DakoCytomation, CA)를 제외한 4, 6-diamidino-2-phenylindole (DAPI), [3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] (MTT), dimethylsulfoxide (DMSO) 등의 모든 약품은 Sigma/Aldrich (St Louis, USA)를 통하여 구입하였다.

2. 세포배양

HeLa cell은 American Type Culture Collection (Rockville, MD, USA)에서 구입하였다. HeLa cell은 2 mM L-glutamine, 100 U/ml penicillin, 100 ug/ml streptomycin, nonessential amino acids, 1.0 mM sodium pyruvate, 10% FBS가 포함된 minimal essential medium (MEM) (Welgene, Korea) 배지로 37°C , 95% air/ 5% CO_2 가 유지되는 incubator에서 배양하였다.

3. Cell viability assay

Cell viability는 MTT assay를 통해 알아보았다. 96-well plate (SPL, Korea)에 배양한 세포들을 2.0×10^5 개씩 분주하여 24시간 배양한 후에 대조군에는 cell culture water를 처리하고 실험군에는 각각의 농도로 배지와 山藥추출물, cisplatin과 半枝蓮추출물을 희석하여 처리하였다. 그리고 PBS(Welgene)로 2회 세정하여 MTT (5 mg/ml) 10 μl 을 37°C 에서 3시간동안 처리하였다. 배지를 제거하고 dimethylsulfoxide(DMSO)를 200 μl 씩 처리하고, microplate reader (Molecular

Devices)를 사용해 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

4. Cell cycle analysis

HeLa cell을 아무것도 처리하지 않은 대조군과 80배의 山藥추출물을 처리한 군, 2 mM의 H_2O_2 를 처리한 군, 2 mM의 H_2O_2 와 80배의 山藥추출물을 함께 처리한 군으로 나누어 24시간 배양한 후에 PBS로 세정하여 차가운 100% 에탄올에서 4°C 에서 하룻밤동안 고정하였다. 다시 PBS로 세정하여 PI buffer(0.1% Triton X-100, 0.1 mM EDTA, 50 ug/ml RNase A, 50 ug/ml propidium iodide)와 함께 배양하였다. 각각의 실험군과 대조군의 세포주기는 FACscan laser flow cytometer (Becton Dickinson, San Jose, CA)로 측정된 후에 Becton Dickinson software (Lysis II Cellfit)을 이용하여 분석하였다.

III. 결 과

1. 山藥이 HeLa cell의 cell cycle에 미치는 영향

배양된 HeLa cell에 80배 희석된 山藥추출물과 2 mM H_2O_2 를 각각 또는 함께 처리하여 24시간 후에 cell cycle의 변화를 G0/G1, G2/M, S기로 나누어 각 단계별로 정량분석하였다(Fig. 1).

山藥과 H_2O_2 가 처리된 HeLa cell의 Cell cycle을 알아본 실험으로 山藥을 처리했을 때 control군과 크게 차이가 없으나 H_2O_2 를 처리했을 때 G0/G1기가 감소하고 G2/M기가 증가하는 것으로 보아 G2/M arrest가 발생한 것을 확인 할

수 있었다. 山藥과 H₂O₂를 동시에 처리했을 때는 H₂O₂만을 처리했을 때보다 G0/G1기가 증가하고 G2/M기가 감소하

는 변화가 나타남으로써 G2/M arrest가 줄어든 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2).

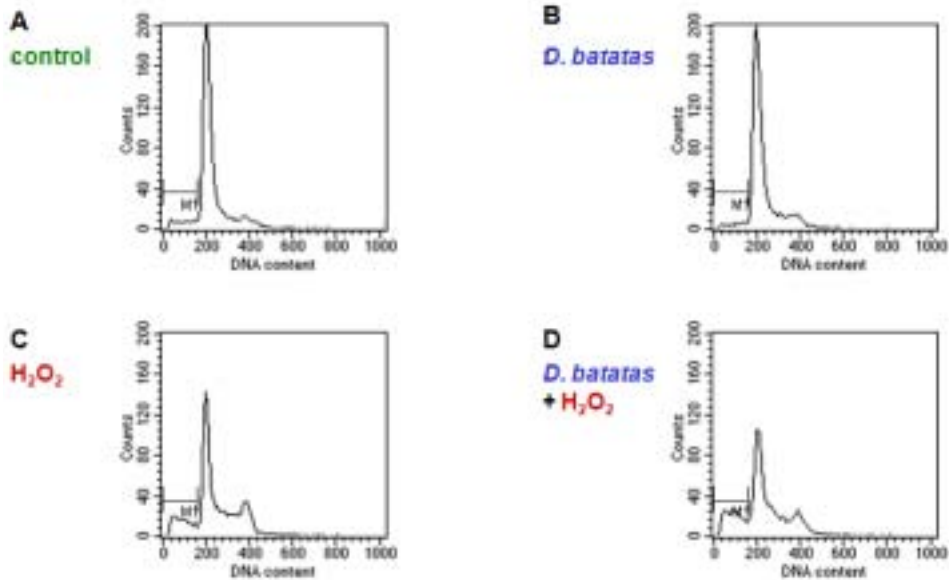


Fig. 1. Histograms of distribution of DNA content in HeLa cells with or without treatments.

Results was expressed as percentage of cells in G0/G1, S and G2/M phases of the cell cycle. The data was representative of four independent experiments. Cells were untreated (A), treated with 80-fold diluted extracts of *D. batatas* (B), 2 mM H₂O₂ (C), and 80-fold diluted extracts of *D. batatas* + 2 mM H₂O₂ (D) for 24 hand stained with propidium iodide.

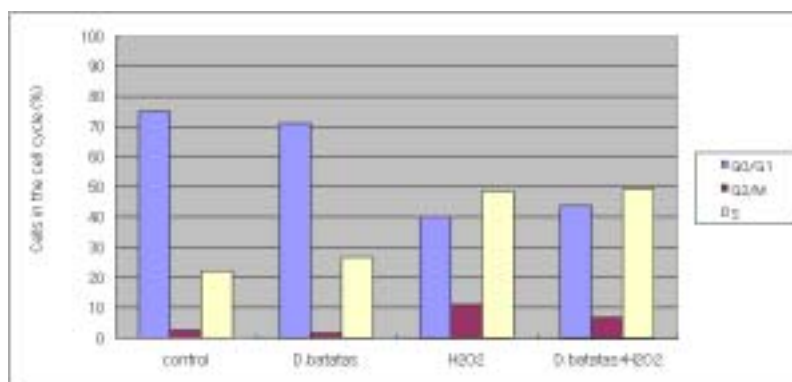


Fig. 2. Distribution of cell population in G0/G1, S and G2/M phases of HeLa cells. HeLa cells treated with *D. batatas* extracts, H₂O₂ and *D. batatas* + H₂O₂ for 24 h, and stained with propidium iodide followed by cytometry analysis. Cells were untreated, treated with 10-fold diluted extracts of *D. batatas*, 2 mM H₂O₂, and 10-fold diluted extracts of *D. batatas* + 2 mM H₂O₂ for 24 hand stained with propidium iodide. G0/G1, G2/M, and S indicate cell phase, the percentages of each cell cycle were evaluated by flow cytometry.

2. 山藥과 cisplatin의 병용 투여가 HeLa cell의 생존율에 미치는 영향

山藥과 현재 사용되고 있는 대표적인 항암제의 하나인 cisplatin을 병용투여하여 山藥이 HeLa cell에서 cisplatin으로 유도되는 apoptosis에 미치는 영향을 확인하였다.

배양된 HeLa cell에 cisplatin의 농도를 0, 5, 10, 25, 50 uM로 증가시키며 24시간동안 처리한 후 cell viability에 미치는 영향을 확인하였고, 30 uM cisplatin과 山藥을 24시간동안 동시처리하여 HeLa cell의 viability를 확인하였다. 항암제로 쓰이는 cisplatin을 각각의 농도로 처리하였을 경우 농도의존적으로 cell viability가 감소하여 50 uM에서 90%의 cell이 죽는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3). 그러나 30 uM cisplatin과 山藥을 동시처리하였을 때 山藥이 cisplatin에 의한 세포의 죽음을 완화시키고 오히려 세포의 생존율을 증가시키는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4).

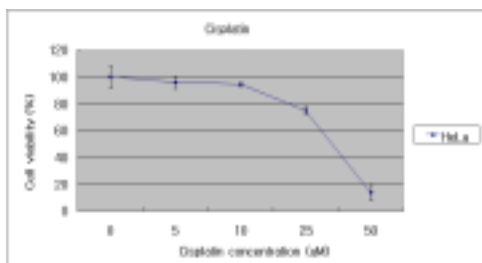


Fig. 3. Effects of cisplatin on the viability of HeLa cells determined by MTT assay.

HeLa cells were treated with cisplatin at the indicated concentrations for 24 h.

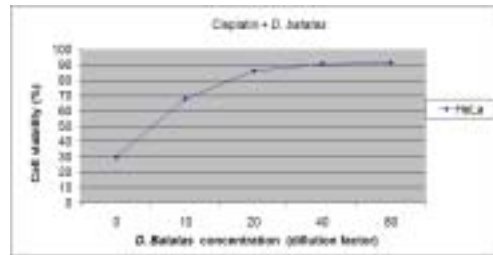


Fig. 4. Effects of *D. batatas* extracts and cisplatin on the viability of HeLa cells determined by MTT assay.

HeLa cells were treated with *D. batatas* extract and 30 uM cisplatin for 24 h at the indicated concentrations for 24 h.

3. 山藥과 半枝蓮의 병용 투여가 HeLa cell의 생존율에 미치는 영향

항암작용이 밝혀진 한약재인 半枝蓮과 山藥을 병용투여하여 山藥이 HeLa cell에서 半枝蓮으로 유도되는 apoptosis에 미치는 영향을 확인하였다.

배양된 HeLa cell에 물중탕으로 추출한 半枝蓮과 메탄올 중탕으로 추출한 半枝蓮을 0, 10, 20, 40, 80배로 희석하여 24시간 처리하여 HeLa cell의 viability를 확인하였다(Fig. 5). 또 58 mg/mL의 물중탕으로 추출한 半枝蓮과 각 농도의 山藥을 24시간동안 처리한 HeLa cell의 viability를 측정하였다(Fig. 6). 半枝蓮물 중탕과 메탄올 중탕을 각각의 농도로 HeLa cell에 처리했을 때 최종적으로 60%의 cytotoxicity를 나타내는 것을 알 수 있었다. 半枝蓮과 山藥을 병용투여하면 특정 농도에서 HeLa cell의 생존율을 증가시키다가 山藥의 농도가 진해짐에 따라 HeLa cell의 생존율을 다시 감소시키는 것을 확인할 수 있었다.

이 실험을 통하여 山藥이 농도에 따라 독성물질로부터 세포를 보호하여 세포의 apoptosis를 억제하는 작용과 세포의

apoptosis를 유도하는 작용을 모두 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

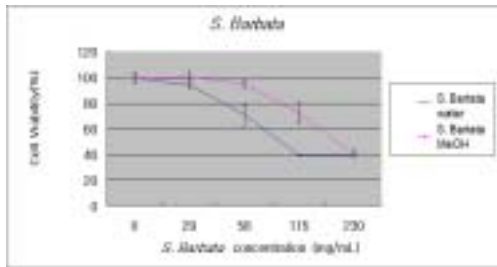


Fig. 5. Effects of *S. barbata* extract on the viability of HeLa cells determined by MTT assay.

HeLa cells were treated with *S. barbata* extract at the indicated concentrations for 24 h.

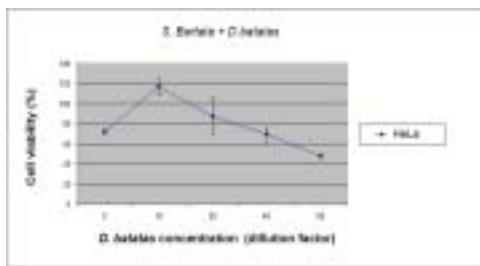


Fig. 6. Effects of *D. batatas* extract and *S. barbata* extract on the viability of HeLa cells determined by MTT assay. HeLa cells were treated with *D. batatas* extract and *S. barbata* extract at the indicated concentrations for 24 h.

IV. 고 찰

한약재를 포함한 많은 천연물들이 항산화 작용을 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 그리하여 다양한 한약재의 항산화 작용에 대한 연구결과 및 항산화 작용을 이용한 항종양, 항노화 등에 대한 연구결과가 보고되고 있다. 예를 들어 김 등⁹⁾은 노화유발 흰쥐에서 山植가 항산화 작용을 일으킴으로써 노화를 억제함을

보고하였고, 최 등¹⁰⁾은 合歡皮가 혈관내피세포에서 높은 항산화 활성을 보임을 보고하여 심혈관질환에 대한 치료가능성을 보고하였으며, 박 등¹¹⁾은 鬼箭羽의 유방암세포에 대한 성장억제 효과 및 항산화효과를 보고하였다. 그러므로 항산화작용을 통한 건강증진과 노화억제 및 조직재생 혹은 산화작용의 조절을 통한 중앙치료 효과가 있는 한약의 연구는 지속가능한 천연물 연구의 중요한 분야라 할 것이다.

山藥(*Dioscoreae Rhizoma*)은 마과에 속한 多年生草본인 마(*Dioscorea batatas* Thunberg) 또는 참마(*Dioscorea japonica* Thunberg)의 뿌리줄기를 건조하여 사용하는 약재이다¹²⁾. 山藥은 『神農本草經』에 “性溫味甘無毒 主傷中, 補虛, 除寒熱邪氣, 補中益氣力, 長肌肉, 久服耳目聰明”이라고 수록되어 있다²⁵⁾. 『東醫寶鑑』에서는 補虛勞, 羸瘦, 充五藏, 益氣力, 長肌肉, 強筋骨하며 또한 開達心孔 安神長志하는 작용을 한다고 하였으며²⁶⁾ 清代의 『本草備要』에서는 ‘補不足, 清虛熱, 益腸胃, 潤肌膚, 化痰涎, 止瀉痢하고 虛損勞傷, 健忘, 遺精을 治하며 生으로 癰瘡에 塗布하면 腫硬을 消한다’라고 하였다²⁷⁾. 근래 부인과 임상 영역에서는 強腎固精의 효능을 이용하여 생식내분비계통의 각종 질환과 절박유산의 범주에 속하는 胎動胎漏에 安胎의 목적으로 상용하고 있다²⁸⁾.

山藥의 약용성분으로는 saponin, dioscin, mucin, allatonin, cholin, diosgenin, batatasine, amylose, tannin등을 함유하고 있다²⁹⁾. 현재까지 보고된 주요 기능은 혈당 강하 작용, 콜레스테롤 저하작용, 비만 조절, 山藥의 주요 성분인 methyl protodioscin,

methyl protoneogracillin, gracillin, dioscin 등의 인간암세포에 대한 항종양효과, 면역조절효과, phospholipase A2 저해작용, 항진균성 및 세포독성의 활성화, 골다공증 억제 효과 등이 있다¹³⁻²¹⁾. 특히 anti-tumor activity, megakaryocytic differentiation, immune-modulation 의 효과는 山藥의 성분 중 spirostanol saponins, dioscin, diosgenin, allatonin에 있는 것으로 보고^{30,31)} 되었다. 이외에도 山藥의 저장단백질인 dioscin의 항산화효과³²⁾도 광범위하게 연구되고 있다. 남 등²³⁾은 신경세포주인 PC12 cell에서 山藥이 H₂O₂의 작용에 대한 항산화 작용을 나타냄을 보고하였고 김²⁴⁾은 생식세포의 일종인 GC-1 spg cell에서의 山藥의 항산화효과를 보고하였다.

최근 山藥의 HeLa cell에 대한 효과에 대한 연구결과²²⁾에 의하면 山藥을 단독 투여하였을 때 HeLa cell의 생존율을 저하시킴으로써 항종양효과가 나타나는 것을 확인하였다. 그런데 山藥을 항암제인 NCS 및 ROS인 H₂O₂와 각각 동시 투여하였을 때에는 고농도에서는 항암효과를 증가시키는 결과를 나타냈지만 낮은 농도에서는 NCS나 H₂O₂로 인한 HeLa cell의 apoptosis를 완화하였다. 또한 이러한 山藥의 항암제가 apoptosis를 일으키는 것에 대한 완화작용의 기전을 확인하고자 Caspase-3, Bcl-2, PARP, p53 등의 발현의 변화를 확인함으로써 항산화 과정이 이러한 효과를 일으키는 데 중요한 역할을 하는 것을 보고하였다.

본 연구에서는 이러한 결과를 바탕으로 山藥이 HeLa cell에 항산화작용을 통하여 산화적 스트레스로 인한 apoptosis를 억제해주는 기전을 보다 자세히 알아

보고 추가적으로 항암제와의 병용투여시의 항암효과의 변화를 확인하고자 하였다. 세포주기 분석법을 통하여 山藥이 HeLa cell의 세포주기에 미치는 영향을 확인하였고, NCS와 H₂O₂를 병용투여한 기존연구결과를 보충하기 위하여 다른 항암제인 cisplatin과 항암효과가 밝혀진 한약재인 半枝蓮을 山藥과 병용투여하여 HeLa cell의 성장에 미치는 영향을 확인하였다.

모든 세포는 G1, S, G2, M기로 이루어진 일정한 세포주기를 반복하며 성장하게 되고³³⁾, 이러한 세포주기는 다양한 cyclin들에 의하여 조절되는데³⁴⁾, 다양한 항암제를 투여하거나 산화적 스트레스를 세포에 가하면 apoptosis가 유발되면서 세포주기의 정지를 초래하게 된다^{35,36)}. 따라서 세포주기에 대한 연구는 암세포의 증식과 성장억제에 대한 연구에서 필수적인 연구이다.

HeLa cell에 H₂O₂와 山藥을 각각 그리고 함께 투여한 결과 H₂O₂를 단독으로 처리하였을 때 G2/M 기에 해당하는 세포의 비율이 높아지는 현상이 나타나며 H₂O₂의 산화적 스트레스가 G2/M arrest를 일으켰음을 확인할 수 있었다. 이는 H₂O₂를 human diploid fibroblast에 처리한 연구에서 나타난 결과와 일치하였다³⁷⁾. 그러나 H₂O₂와 山藥을 동시에 처리한 결과 G2/M arrest가 줄어든 결과를 확인할 수 있었다. 이로써 山藥이 H₂O₂로 인하여 유도되는 apoptosis를 억제하는 작용이 있다는 것을 추정할 수 있다.

Cisplatin은 암세포의 DNA에 비가역적으로 반응하여 guanine residue 사이에 intra, inter-strand crosslink를 형성함으로써 암세포를 죽게 하거나 또는 calcium

transduction channel을 방해하여 세포에 손상을 주는 강력한 항암제이다³⁸⁻⁴⁰. cisplatin에 의해서 유도된 ROS가 caspase의 활성화에 영향을 주어 apoptosis를 일으키는 것이 항암효과의 주요한 기전으로 밝혀져 있다⁴¹. HeLa cell에 cisplatin을 단독으로 처리하였을 때에는 농도 의존적으로 세포활성이 감소하는 것이 확인되었지만 HeLa cell에 H₂O₂와 cisplatin을 함께 처리하였을 때 山藥의 농도가 증가함에 따라 HeLa cell의 활성이 증가하는 것을 확인 할 수 있었다. 그러므로 山藥이 cisplatin으로 인하여 발생하는 HeLa cell의 apoptosis를 억제하는 작용을 하는 것을 알 수 있었다.

半枝蓮(*Scutellaria barbata* Don)은 항암약물로 많이 이용되는 한약재로 性이 平 또는 涼하고 味는 辛, 微苦하며 肝, 脾, 肺, 胃, 大腸經으로 歸經한다⁴². 그 효능은 清熱解毒, 祛瘀止痛, 消腫散結, 行氣利水, 止血 등의 작용이 있어서 濕熱黃疸, 咽喉腫痛, 肺癰, 疔瘡, 癰癤, 吐血, 衄血, 血淋과 같은 熱毒症狀과 간암, 소화기암, 자궁암 등의 각종 암치료에 사용되는 한약재이다⁴³⁻⁴⁵. 半枝蓮에 대한 연구로는 난소암⁴⁶, 유방암⁴⁷, 폐암 세포 성장 억제효과⁴⁸와 자궁근종세포 억제효과⁴⁹, 항균작용⁵⁰, 자궁경부암세포인 HeLa cell에 대한 성장억제 작용^{51,52} 등이 연구되었다.

HeLa cell에 半枝蓮을 단독으로 처리하였을 때 농도 의존적으로 세포활성이 감소하는 것을 볼 수 있었다. 그러나 HeLa cell과 半枝蓮을 동시에 처리하였을 때 저농도에서 半枝蓮의 세포활성이 증가하였고 점차 山藥의 농도가 증가함에 따라 세포활성이 감소하는 결과를 확

인할 수 있었다. 이러한 결과는 山藥이 半枝蓮과 병용투여되었을 때 농도에 따라 산화적 스트레스로부터 세포를 보호하기도 하지만 세포의 죽음을 유도하는 항암작용을 모두 나타내는 것으로 NCS나 H₂O₂와 山藥을 함께 투여하였을 때 양측성 작용을 보인 기존의 연구와 부합하는 결과이다²². 이러한 결과를 한의학적으로 고찰해보면 補益하는 것이 山藥의 주요 효능이므로 半枝蓮과 같은 祛邪의 개념을 가진 약물과 배합하여 중양의 치료에 응용하는 扶正去邪 즉 攻補兼施의 치료법으로 생각할 수 있다⁵³. 山藥의 농도에 따라 다른 반응을 보이기 때문에 환자의 正氣의 손상여부 및 약제의 배합에 따라 효능의 변화가 생길 수 있으므로 지속적인 연구가 필요할 것이다.

V. 결 론

HeLa cell에 H₂O₂, cisplatin, 半枝蓮과 같은 산화적 스트레스와 함께 山藥을 동시 처리하여 cell cycle의 변화, HeLa cell의 생존율의 변화를 확인하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

일련의 실험결과로 볼 때 山藥은 H₂O₂로 인하여 발생하는 HeLa cell의 cell cycle arrest를 완화시키는 작용을 하였으며, 산화적 스트레스를 통하여 항암작용을 나타내는 cisplatin과 半枝蓮으로 인한 HeLa cell의 apoptosis의 진행을 완화하는 결과를 확인할 수 있었다.

추후 다른 세포주를 이용한 山藥의 세포보호 효과에 대한 연구를 통하여 山藥의 항산화 작용에 대한 더 많은 정보를 확인할 수 있을 것으로 사료된다. 또한

半枝蓮과 山藥의 병용투여 결과와 선행 연구성과²²⁾를 종합하여 볼 때 山藥의 농도에 따라 apoptosis가 유발되기도 하고, 완화되기도 하는 쌍향성의 작용을 보임을 알 수 있었다. 이는 山藥이 단일성분이 아닌 여러 가지 성분들로 이루어진 복합물이기 때문인 것으로 여겨지나 이에 대한 추가적인 연구가 필요한 것으로 사료된다.

- 투 고 일 : 2008년 1월 22일
- 심 사 일 : 2008년 1월 28일
- 심사완료일 : 2008년 2월 1일

참고문헌

1. 강경아 등. 산화적 스트레스에 대한 생약 추출물의 항산화 활성 검색. 생약학회지. 2005;36(3):159-163.
2. Fang J, Nakamura H, Iyer AK. Tumor-targeted induction of oxystress for cancer therapy. J Drug Target. 2007;15(7):475-486
3. Chandra J, Samali A, Orrenius S. Triggering and modulation of apoptosis by oxidative stress. Free Radic Biol Med. 2000;29:323-333.
4. Buttke TM, Sandstrom PA. Oxidative stress as a mediator of apoptosis. Immunol Today. 1994;15:7-10.
5. Finkel T. Redox-dependent signal transduction. FEBS Lett. 2000;476:52-54.
6. Muller I et al. Effect of concentration on the cytotoxic mechanism of doxorubicin-apoptosis and oxidative DNA damage. Biochem Biophys Res Commun. 1997;230:254-257.
7. Devary Y et al. The mammalian ultraviolet response is triggered by activation of Src Tyrosine kinases. 1992;71:1081-1091.
8. Bender K et al. UV-induced signal transduction. J Photochem Photobiol. 1997;37:1-17.
9. 김경호 등. 山植가 노화유발 흰쥐의 항산화능에 미치는 영향. 대한예방한 의학회지. 2004;8(2):65-80.
10. 최민선 등. 合歡皮추출물의 항산화 활성 및 혈관계에 미치는 영향에 대한 연구. 대한한방부인과학회지. 2004; 17(4):61-72.
11. 박영수 등. SKBR3 유방암 세포주에 대한 鬼箭羽 메탄올 추출물의 성장 억제 및 항산화효과. 대한한방부인과학회지. 2005;18(1):45-54.
12. 전국한의학대학교본초학교실. 본초학. 서울: 영림사 1995;537.
13. McAnuff MA. et al. Hypoglycemic effects of steroidal sapogenins isolated from Jamaican bitter yam, *Dioscorea polygonoides*. Food Chem Toxicol. 2005;43(11):1667-1672.
14. Chen H. et al. Effects of Taiwanese yam (*Dioscorea japonica* Thunb var. *pseudojaponica* Yamamoto) on upper gut function and lipid metabolism in Balb/c mice. Nutrition. 2003;19(7-8):646-651.
15. Kwon CS et al. Anti-obesity effect of *Dioscorea nipponica* Makino with lipase-inhibitory activity in rodents. Biosci Biotechnol Biochem. 2003;

- 67(7):1451-1456.
16. Hu K, Yao X. The cytotoxicity of methyl protodioscin against human cancer cell lines in vitro. *Cancer Invest.* 2003;21(3):389-393.
 17. Hu K, Yao X. The cytotoxicity of methyl protoneograccillin (NSC-698793) and gracillin (NSC-698787), two steroidal saponins from the rhizomes of *Dioscorea collettii* var. *hypoglauca*, against human cancer cells in vitro. *Phytother Res.* 2003;17(6):620-626.
 18. Jing Cai. et al. Apoptosis induced by dioscin in Hela cells. *Bio. Pharm. Bull.* 2002;25(2):193-196.
 19. Choi EM, Koo SJ, Hwang JK. Immune cell stimulating activity of mucopolysaccharide isolated from yam (*Dioscorea batatas*). *J Ethnopharmacol.* 2004;91(1):1-6.
 20. Kim MJ et al. Methanol extract of *Dioscoreae Rhizoma* inhibits pro-inflammatory cytokines and mediators in the synoviocytes of rheumatoid arthritis. *Int Immunopharmacol.* 2004; 4(12):1489-1497.
 21. Yin J. et al. Antiosteoporotic activity of the water extract of *Dioscorea spongiosa*. *Biol Pharm Bull.* 2004; 27(4):583-586.
 22. 전영준 등. 山藥의 HeLa cell 분화에 미치는 영향과 항산화효과에 대한 연구. *대한한방부인과학회지.* 2007;20(2):139-154.
 23. 남주영 등. 安胎에 활용되는 山藥의 신경세포주에 대한 안전성 및 항산화효과에 대한 연구. *대한한방부인과학회지.* 2006;19(4):61-76.
 24. 김산웅. 山藥의 GC-1 spg cell에 대한 항산화효과. 서울: 경희대학교 대학원. 2006.
 25. 임진석. 本經疎證. 서울: 아티전. 1998;79.
 26. 許俊. 東醫寶鑑. 서울: 南山堂. 1998;1182.
 27. 楊東喜. 本草備要解析. 서울: 醫聖堂. 1993;491.
 28. 김성란, 정진홍, 유동열. 安奠二天湯을 중심으로 한 胎漏 및 胎動不安의 文獻的 考察. *大田大學校韓醫學研究所 論文集.* 1998;7(1):607-624.
 29. 김호철. *한약약리학.* 서울: 집문당. 2001;432.
 30. Choi HH et al. Novel ginseng saponin metabolite induces apoptosis and down-regulates fibroblast growth factor receptor 3 in myeloma cells. *International Journal of Oncology.* 2003;23(4):1087-1093.
 31. Yanamandra N et al. Triterpenoids from *Glycine max* decrease invasiveness and induce caspase-mediated cell death in human SNB19 glioma cells. *Clinical & Experimental Metastasis.* 2003;20(4):375-383.
 32. Hou WC et al. Antioxidant activities of dioscorin, the storage protein of yam (*Dioscorea batatas* Decne) tuber. *J Agric Food Chem.* 2001; 49(10):4956-4960.
 33. Howard A. Pelc. SR. Synthesis of deoxyribonucleic acid in normal and irradiated cells and its relation to chromosome breakage. *Heredity.* 1953;6:261.
 34. Minshull J. et al. The role of cyclin

- synthesis, modification and destruction in the control of cell division. *J. Cell Sci.* 1989;12(suppl):77-97.
35. Ming-Jie Liu et al. Methyl protodioscin induces G2/M arrest and apoptosis in K562 cells with the hyperpolarization of mitochondria. *Cancer Lett.* 2005; 224(2):229-241.
 36. Hou R et al. Diosgenin induces apoptosis in HeLa cells via activation of caspase pathway. *Acta Pharmacol Sin.* 2004;25(8):1077-1082.
 37. 김연주. H₂O₂에 의한 세포조기노화 모델에서 actin의 핵 내 이동과 P21WAF1의 세포질로 이동. 수원: 아주대학교 대학원. 2006.
 38. Ravi R, Somani SM. Mechanism of cisplatin ototoxicity. Antioxidant system. *Pharmacology & Toxicology.* 1995;76:386-394.
 39. Williams CJ, Whitehouse JM. Cis-platinum: a new anticancer agent. *Br Med J.* 1979;1:1689-1691.
 40. Schmidt F, Groscurth P. Lovastatin and phenylacetate induce apoptosis, but not differentiation, in human malignant glioma cells. *Acta Neuropathol(Berl).* 2001;101:217-224.
 41. 고경희 등. Cisplatin에 의한 HeLa세포의 세포고사에 미치는 활성산소종의 영향. *대한산부인과학회지.* 2003; 46(12):2410-2416.
 42. 顏正華. 中藥學. 北京: 人民衛生出版社. 1991;221-222.
 43. 常毅敏. 抗癌本草. 서울: 도서출판 바람과 물결. 1992;171-174.
 44. 盛展能. 抗癌治驗本草. 重慶: 重慶出版社. 1994;27-29,213-215.
 45. 潘鴻鵠. 中醫藥抗癌學. 北京: 中醫古籍出版社. 1998;274, 280-281.
 46. 서진우 등. 半枝蓮이 난소암세포(SUN-251)의 성장억제에 미치는 영향. *대한한방부인과학회지.* 1999;12(1):151-160.
 47. 권은정 등. 半枝蓮이 유방암에 미치는 영향에 관한 연구. *대한한방부인과학회지.* 1999;12(2):148-182.
 48. Yin X et al. Anticancer activity and mechanism of *Scutellaria barbata* extract on human lung cancer cell line A549. *Life Sci.* 2004;75(18):2233-2244.
 49. Lee TK et al. Inhibitory effects of *Scutellaria barbata* D. Don on human uterine leiomyoma smooth muscle cell proliferation through cell cycle analysis. *Int Immunopharmacol.* 2004;4(3):447-454.
 50. Sato Y et al. Phytochemical flavones isolated from *Scutellaria barbata* and antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Ethnopharmacol.* 2000;72(3):483-488.
 51. 이윤정 등. 半枝蓮이 자궁암세포(HeLa22918)의 성장억제에 미치는 영향. *대한한방부인과학회지.* 1999; 12(1):185-196.
 52. Kim EK et al. Induction of G1 arrest and apoptosis by *Scutellaria barbata* in the human promyelocytic leukemia HL-60 cell line. *Int J Mol Med.* 2007;20(1):123-128.
 53. 홍원식. 現代中國의 癌治療法. 서울: 英文社. 1980;17-35, 81-84, 361-388.