J. Exp. Biomed. Sci. 15 (2009) 147-152

Effect of *Lycopus lucidus* Trucz on Cell Growth of Human Breast Cancer Cells, MCF-7

Do-Yeon Kim and Sung-Ho Ghil†

Department of Life Science, Kyonggi University, Suwon 443-760, Korea

Lycopus lucidus Turcz is well known as traditional Chinese medicine, and it has been shown to exhibit anti-inflammatory, -allergic and -oxidative effect. However, its anti-cancer properties have not been examined yet. In this study, we investigated the effect of the methanol extract of *Lycopus lucidus* Turcz on anti-cancer effect in MCF-7 human breast cancer cells. Treatment of *Lycopus lucidus* Turcz extract induced apoptosis and inhibition of cell proliferation in dose- and time-dependent manner. Apoptosis in the MCF-7 cells was characterized with the changes in nuclear morphology; decrease of Bcl-2 and caspase-7 expression; and increase of cleaved poly ADP-ribose polymerase (PARP). Furthermore, treatment of *Lycopus lucidus* Turcz extract caused the down-regulation of cell cycle-related protein including, cdk4, cyclin D1 and E2F-1. These results suggest that *Lycopus lucidus* Turcz might have the therapeutic value against human breast cancer cells.

Key Words: Apoptosis, MCF-7, Human breast cancer, Cell cycle arrest, Herbs

서 론

인간의 질병 중에서 암은 나이가 들어가면서 발병하는 일반적인 질병이다 (Hulka et al., 2001). 여러 장기에 생길 수 있는 암중에서 유방암은 폐암 다음으로 두 번째로 많이 발병하는 암이고, 암으로 인한 사망 중에서 다섯 번째로 꼽히고 있다 (Smigal et al., 2006). 이 유방암은 성인 여성에게 발병하는 가장 흔한 암으로, 나이가 들 수록 발병률이 증가하는 양상을 보이고 있다 (Hulka et al., 2001; Jo et al., 2005). 또한 다른 암들과는 다르게 침습이 매우 강한 특징을 보이기 때문에 치료하기가 매우 어렵다 (Lopez-Otin et al., 1998).

세포 죽음은 세포고사와 세포괴사 두 가지 종류로 구분할 수 있다. 세포고사는 '계획된 세포 죽음' 이라는 어구와 동의어적으로 사용되는 말로, 세포에 내재하는 세포신호전달과정에 의해 조절되는 자살 메커니즘을 의미한다 (Edinger and Thompson, 2004). 세포고사는 세포 항상성의 유지와 증진에 중요한 역할을 할 뿐 아니라, 유해한 세포를 제거하기 위한 메커니즘의 일종이다 (Kroemer et al., 1995). 엄밀히 말하자면 세포고사는 오래된 세포, 불필요한 세포, 손상을 입은 세포 등을 제거하는 신호전달과정을 유도한다고 할 수 있다 (C.B. Thompson, 1995). 또한 많은 보고들에서 암세포에 작용하여 항암효과를 유발하는 약물들이 탐색 및 발굴되고 있고 이들은 많은 경우 암세포의 세포고사를 유발하는 것으로 알려져 있다 (Kamesaki et al., 1998). 따라서 암세포의 세포고사를 유발하는 약물을 탐색하고 발굴하는 연구는 항암제 개발에 있어 시작이 되는 매우 중요한 연구가 된다고 할 수 있다. 항암효과를 보이는 약물을 탐색하기 위한 대상이 되는 물질은 주로 생약을 포함한 식물 등이 그 재료로 이용되고 있으며 (Grube et al., 2001; Kitts et al., 2001; Cho et al., 2002), 최근에서 조류, 미생물, 해양생물 등의 천연물을 이용하는 방법과 화학적으로 합성된 물질을 이용하는 경우 등 그 대상이 다양해 지고 있다.

본 연구에서는 택란 (*Lycopus lucidus* Turcz)이라는 생약을 이용하여 연구를 진행하였다. 택란은 꿀풀과 쉽싸리의 꽃이 피기 전의 지상부를 말한다. 택란은 다년생 식물로써 중국과 한국에 널리 분포하고 있다. 이 식물의 잎은 수 세기 동안 동양의 전통 약제로 쓰였고, 강장제, 심강장제, 무월경증 치료제, 상처회복제제, 통증완화제 등으

*논 문 접 수: 2009년 4월 29일
수정재접수: 2009년 6월 2일
†교신저자: 길성호, (우) 443-760 경기도 수원시 영통구 이의동, 경기대학교 생명과학과
Tel: 031-249-9646, Fax: 031-249-9646
e-mail: shghil@kyonggi.ac.kr

로 현재도 한방에서는 이용되고 있다. 또한 최근에는 항산화 효과와 항염증 효과가 있다고 알려져 있다 (Yun et al., 2003; Park, 2004; Shin et al., 2005; Lee et al., 2006). 하지만 아직까지 택란의 항암효과에 대해서는 보고되어 있지 않다.

본 연구에서는 인간 유방암 세포인 MCF-7을 이용하여 택란의 메탄올 추출물 적용시 암세포의 성장 및 생존에 미치는 영향을 조사하였고, 그 결과 암세포의 세포고사 및 성장억제를 유발하는 것을 확인하였다. 또한 택란의 추출물이 MCF-7 세포에 미치는 영향을 세포고사 및 세포주기와 관련된 단백질의 발현변화를 통해 확인하였다.

재료 및 방법

1. 택란 메탄올 추출물

실험에 사용된 택란의 원산지는 경상북도 영천이며, 서울특별시 동대문구 제기동에 위치한 경동시장에서 구입하였다. 택란 5 g을 99.8% 메탄올 50 ml이 담긴 conical tube에 넣고 72시간 정치 시켰다. 택란 추출액 10 ml을 진공회전증발기로 증발시킨 후 남은 추출물을 Dimethylsulfoxide (DMSO, Sigma, St. Louis, MO)에 녹여 사용하였다.

2. 세포 배양

인간 유방암 세포인 MCF-7 세포는 10% (v/v) fetal bovine serum (Hyclone, South Logan, UT), 100 units/ml penicillin과 100 μg/ml streptomycin (Hyclone)이 포함된 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, Hyclone)의 성장배지에서 37℃, 5% CO_2 조건으로 배양하였다.

3. 세포성장 분석

인간 유방암 세포 MCF-7 세포를 96-well 배양접시에 3.0×10^3 cells/well로 분주하고, 24시간 동안 배양한 후, 택란 추출물을 농도 별로 (1~300 μg/ml) 처리하였다. 세포에 택란 추출물을 처리한 후, 시간대 별로 (0~72시간) 재차 배양하였다. 세포의 성장 및 생존 여부를 분석하기 위해 세포에 MTT working 용액 [3-(4,5-dimethylthiazol-z-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) (Sigma)] 10 μl/well 첨가하여, 4시간 동안 반응시켰다. 반응 후, Stop 용액 [Isopropyl alcohol과 1 N HCl을 각각 19:1로 혼합한 용액] 100 μl/well을 첨가하여 formazan을 잘 녹여 microplate reader [SpectraMax Plus^{384} (Molecular Devices, Sunnyvale, CA)]를 이용하여 570nm 파장에서 측정하였다. 이때, 각 well당 최종 DMSO 농도는 0.5%이었으며, 한 농도당 각각 4개의 well을 사용하여 평균값을 구하였다.

4. 세포핵 염색

MCF-7 세포를 collagen과 poly-D-Lycine (PDL)로 코팅된 coverslip 위에 5.0×10^3 cells/coverslip로 얹고, 24시간 동안 배양하였다. 세포 배양액에 택란 메탄올 추출액 50 μg/ml을 처리하고 24시간 동안 추가 배양하였다. 4% Paraformaldehyde로 세포를 고정시키고, PBS로 수세한 후, 10 μg/ml의 Hoechst 33258을 20분간 반응시켜 형광현미경 (BX-50, Olympus, Tokyo, Japan)을 사용하여 세포의 핵을 관찰하였다.

5. Western blot 분석

MCF-7 세포를 100 mm 배양접시에 5.0×10^5 cells/dish가 되도록 분주하고, 24시간 동안 배양하였다. 세포 배양액에 50 μg/ml의 택란 추출물 처리하고, 0~72시간 동안 추가 배양한 후, 배양액을 제거하고 500 μl의 lysis buffer [Aprotinin 1 μg/ml, PMSF 50 μg/ml, Leupeptin 1 μg/ml, Pepstatin A 1 μg/ml이 첨가된 0.1% PBTx (0.1% Tryton X-100, 1 mM EDTA, 5 mM $MgCl_2$가 첨가된 PBS)]를 넣어 세포를 수집하여 4℃에서 1시간 동안 세포를 용해하였다. 용해된 세포의 추출액을 확보하기 위해 4℃, 12,000 rpm으로 원심 분리하여 상등액을 분리하였다. 50 μg의 추출액을 이용하여 10% SDS-PAGE를 수행하고 PVDF membrane (Westran S, Watman, Florham Park, NJ)에 Semi-dry Electroblotting Units (Bio-rad, Hercules, CA)로 12 V 75분 조건으로 transfer하였다. 단백질이 옮겨진 membrane을 5% non-fat milk로 1시간 동안 blocking 한 후, 일차항체 [p53 (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) 1:500; Bax (Santa Cruz biotechnology) 1:500; Cdk4 (Santa Cruz Biotechnology) 1:500; Cyclin D1 (Santa Cruz Biotechnology) 1:500; E2F-1 (Santa Cruz Biotechnology) 1:500; PARP-1/2 (Santa Cruz Biotechnology) 1:500; Bcl-2 (Santa Cruz Biotechnology) 1:500; Caspase-7 (Santa Cruz Biotechnology) 1:500; β-actin (Sigma) 1:5,000] 및 이차항체 (Goat anti-Mouse IgG HRP conjugate (ZYMED, Carlsbad, CA) 1:5,000와 Goat anti-Rabbit IgG HRP conjugate (ZYMED) 1:25,000)를 반응시킨 후 West-Zol® (Intron Biotechonolgy, Sungnam, Korea)을 사용하여 X-ray film (Agfa, Mortsel, Belgium)에 감광시킨 후 현상하였다.

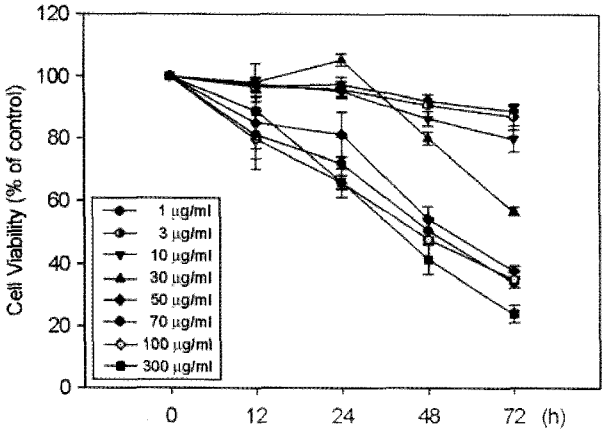

Fig. 1. Effect of *Lycopus lucidus* Turcz extract on proliferation of MCF-7 cells. Cells were treated with methanol extract of *Lycopus lucidus* Turcz in various time and concentration. Cell proliferation was determined by MTT assay. Each point represents the mean of the data from three independent experiments.

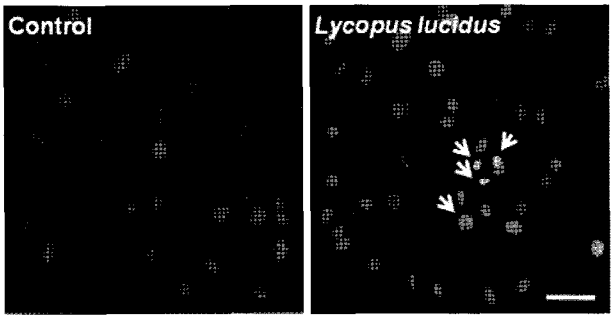

Fig. 2. Effect of *Lycopus lucidus* Turcz extract on nuclear morphology in MCF-7 cells. MCF-7 cells were incubated with either growth media or with growth media containing 50 μg/ml of *Lycopus lucidus* Turcz methanol extract for 24 h. Arrows indicate cell shrinkage, chromatin condensation and nuclear fragmentation. All pictures are typical of three independent experiments each performed under identical conditions. Scale bar = 50 μm

Western blot 분석에 의해 수행된 실험은 적어도 3번 이상 독립적으로 수행되었으며, 대표적인 결과를 그림으로 나타냈다.

결 과

택란 메탄올 추출물이 MCF-7의 성장 및 생존에 미치는 영향을 조사하기 위해 다양한 택란 메탄올 추출물의 처리농도 (1~300 μg/ml) 및 다양한 처리시간 (0~72시간)을 대상으로 MTT 분석을 실시하였다 (Fig. 1). 택란 추출물의 처리농도 및 처리시간이 증가할수록 세포의 생존은 감소하는 양상을 보였으며, 전체 세포의 50%가 사멸하는 농도 (median effective dose, EC_{50})는 48, 72시간에서 각각 79.4 μg/ml와 48.7 μg/ml이었다. 이 결과는 택란 메탄올 추출물의 처리시간과 처리농도 의존적으로 인간 유방암 세포인 MCF-7 세포의 세포사멸을 유도함을 알 수 있었다.

택란 메탄올 추출물이 MCF-7 세포사멸을 유도하는 분자적 기작을 조사하기 위해 세포핵을 염색할 수 있는 Hoechst 33258을 세포와 반응시켜 50 μg/ml의 택란 메탄올 추출물을 24시간 동안 처리시 나타나는 세포핵의 모양변화를 관찰하였다 (Fig. 2). 택란 메탄올 추출물을 처리하지 않은 정상 세포의 핵과 비교하였을 때, 택란 메탄올 추출물을 처리한 실험군에서 전형적인 세포고사를 나타내는 핵의 형태인 응축되어 밝게 빛나고 있는 핵 그리고 잘게 부서진 핵의 절편들도 관찰되었다. 이 실험을 통하여 택란 메탄올 추출물이 MCF-7 세포의 세포고사를 유도하여 세포사멸을 일으킴을 확인하였다. 50 μg/ml의 택란 메탄올 추출물을 24시간 동안 처리하게 되면 18.6%의 세포가 사멸하며 (Fig. 1), 이러한 결과는 Fig. 2에서 보이는 결과와 일치하였다. 택란 메탄올 추출물 처리시 나타나는 세포고사 관련 단백질의 발현을 조사하기 위해 MCF-7 세포에 택란 메탄올 추출물을 처리한 후, Western Blot 분석을 수행하였다 (Fig. 3A). Bax와 Bcl-2 단백질은 Bcl-2 그룹에 속하는 단백질들로서 미토콘드리아에서 세포고사 유전자를 가진 단백질들의 방출을 조절하는 역할을 수행하는 것으로 알려져 있다 (Ricci and Zong., 2006). Bax 단백질의 발현은 택란 추출물을 세포에 처리하였을 때 시간이 경과해도 변화가 거의 없어 보였다. 하지만 Bcl-2 단백질은 시간이 지나면서 점차 발현이 줄어드는 것을 알 수 있었다. 결국 세포고사의 여부를 판단할 수 있는 Bcl-2/Bax의 발현비율은 처리시간에 비례하여 증가하는 양상을 보였다 (Fig. 3B). 또한 caspase-7 단백질은 세포고사가 진행됨에 따라 단백질이 분해되어 그 발현이 줄어드는 대표적인 단백질이며, caspase-7의 발현 저하는 세포고사의 특징을 대변하는 현상인데 (Ricci and Zong, 2006), 택란 추출물의 처리에 의해 caspase-7의 발현은 처리시간에 비례하여 점차 감소되는 양상을 보였다. 세포고사의 진행을 대변할 수 있는 또 하나의 단백질은 poly (ADP-ribose) polymerase (PARP)이며, 이는 세포고사의 진행과 함께 caspase 그룹 단백질의 활성화에 의해 116 Kd의 크기를 갖는 전장의 PARP가 잘린 형태인 89 Kd의 PARP (cleaved-PARP)로 나타나게 되는데 (Ricci and Zong, 2006), 택란 메탄올 추출물의 처리에 의해 cleaved-PARP의 양이 처리시간에 비례하여 점진적으로 증가하는 양상

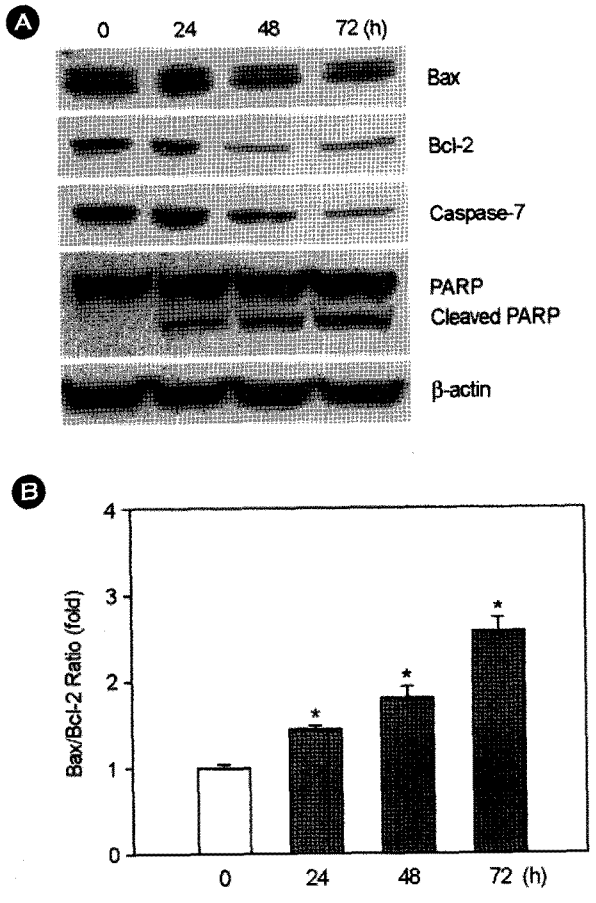

Fig. 3. Effects of the *Lycopus lucidus* Turcz extract on the apoptosis-related protein expression. **(A)** Cells were treated with 50 μg/ml of *Lycopus lucidus* Turcz extract for indicated times. The cell extracts were subjected into Western blot analysis using antibodies against Bax, Bcl-2, caspase-7, and PARP. β-actin was used as an internal control. **(B)** The Bax/Bcl-2 ratio was represented. Data are presented as means and S.E. of at least three independent experiments. *$P<0.01$ compared to control.

을 확인하였다. 이상의 결과는 택란 메탄올 추출물이 세포사멸을 유도함에 있어 세포고사가 분자적 기전임을 알 수 있다.

Fig. 1에서 나타나듯이 MCF-7 세포에 택란 메탄올 추출물을 처리하면, 세포사멸뿐 아니라 세포증식 억제효과를 보임을 알 수 있다. 택란 메탄올 추출물의 처리가 세포주기와 관련된 단백질의 발현에 미치는 영향을 조사하기 위하여 Western blot 분석을 수행하였다 (Fig. 4). 대표적인 암 억제 유전자인 p53의 발현이 택란 메탄올 추출물 처리 24시간 후 급격히 증가하였고, 48시간에 최대의 발현량을 보였다. 세포주기 G1기에서 S기로 넘어가는 검문지점에 관련되어 있는 단백질인 Cdk4와 cyclin-D1 단백질의 발현량은 택란 메탄올 추출물 처리 24시간부터 줄어들어 72시간 까지 그 발현량이 점차 감소함을 확

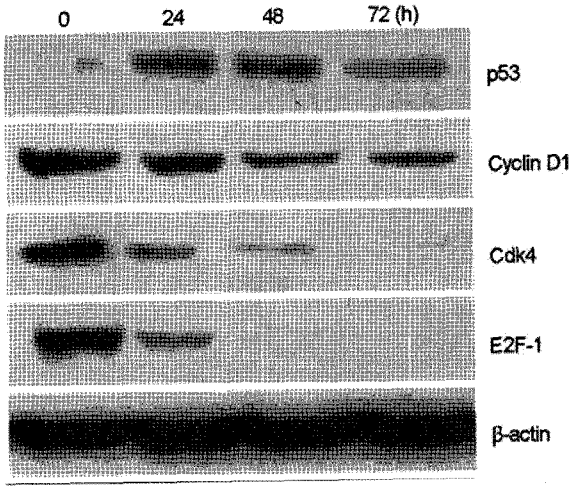

Fig. 4. Effects of the *Lycopus lucidus* Turcz extract on the cell-cycle-related protein expression. Cells were treated with 50 μg/ml of *Lycopus lucidus* Turcz extract for indicated times. The cell extracts were subjected into Western blot analysis using antibodies against p53, cyclin D1, cdk4, and E2F-1. β-actin was used as an internal control.

인할 수 있었다. Cdk4와 cyclin-D1 단백질의 발현량이 감소하고, 결국 E2F-1 단백질의 발현량 역시 현저히 감소함을 확인하였다. 이 결과들로부터 택란 메탄올 추출물이 MCF-7 세포의 증식을 억제시키는 현상은 세포주기에 관련된 몇몇 단백질의 발현량을 조절함으로써 가능하다는 것을 알 수 있었다.

고 찰

본 연구에서는 택란 메탄올 추출물이 보이는 항암효과를 조사하기 위해 인간 유방암 세포인 MCF-7 세포를 대상으로 세포의 성장 및 사멸에 택란 추출물이 미치는 효과를 조사하였다. 그 결과 택란 메탄올 추출물의 적용은 MCF-7의 세포사멸 및 세포성장억제를 유도하였다 (Fig. 1). 또한 택란 메탄올 추출물의 처리에 의해 세포핵의 응축 및 세포고사 관련 단백질의 발현이 변화하였으며 (Fig. 2와 3), 세포주기 조절 단백질들의 발현변화를 유도하였다 (Fig. 4). 이러한 결과는 택란 메탄올 추출물에 존재하는 성분이 유방암세포의 항암효과를 유도할 수 있음을 강력히 시사한다.

세포고사는 caspase라 불리는 단백질 분해효소에 의해 조절되는 세포 죽음 프로그램이다. 이 세포고사과정은 암을 포함한 여러 질병들과 관련이 있고, 세포의 항상성을 유지하는데 중요한 역할을 한다. 미토콘드리아 의존적 세포고사를 조절하는 중요한 단백질인 Bcl-2 그룹들

은 세포의 삶과 죽음을 조절하는 단백질로 잘 알려져 있다. Bcl-2와 여러 생존유지적인 단백질들은 미토콘드리아의 외막, 소포체, 핵막의 유지와 관련돼 있다. 세포고사 과정이 시작되면, Bcl-2 그룹의 일종인 Bax와 Bak 단백질에 의해 미토콘드리아 외막의 투과성이 증가되고 세포고사 신호를 전달하는 싸이토크롬 C가 방출된다. 한편 Bcl-2는 Bax와 Bak이 미토콘드리아에 작용하는 것을 억제한다. 미토콘드리아로부터 방출된 싸이토크롬 C는 pro-caspase-9 단백질과 결합해 세포고사좀을 형성하게 되고, 이는 다음 신호과정에 있는 caspase-3/7 단백질들에 영향을 미쳐 PARP 단백질을 활성화 형태인 cleaved-PARP 형태로 변환시켜 결국에는 세포의 세포고사가 일어나게 된다 (Cory and Adams., 2002; Edinger and Thompson., 2004; Lockshin and Zakeri., 2004; Ricci and Zong., 2006). 본 연구에서 택란 메탄올 추출물을 인간 유방암 세포인 MCF-7 세포에 처리하여 세포고사를 시사하는 단백질인 Bax, Bcl-2, caspase-7, PARP 단백질들의 발현을 확인하였다. Bax 단백질의 발현량의 변화는 보이지 않았으나, Bcl-2 단백질의 발현이 감소하는 것을 확인하였다. 이는 미토콘드리아 외막의 투과성이 증가 됐을 것이라는 증거가 될 수 있다. 또한, 일련의 세포고사 신호 기작에서 중요한 역할을 하는 caspase-7 단백질이 분해되어 발현이 감소됨을 확인하였고, caspase-7 단백질이 활성화 됨에 따라 전체 116 Kd의 크기를 갖는 PARP 단백질이 활성화 형태인 cleaved-PARP 형태로 분해된 것을 확인하였으며, 시간에 의존적으로 발현량이 점차 증가됨을 확인하였다. 이상의 결과들로 볼 때, 택란 메탄올 추출물을 MCF-7 세포에 처리했을 때, 세포사멸을 유도함에 있어 세포고사가 그 분자적 기전임을 알 수 있다.

더 나아가, 암 억제 유전자 p53 단백질, cdk4, cyclin-D1, E2F-1 단백질들의 발현이 시간이 지나면서 감소하는 것을 알 수 있었고, 이는 택란 메탄올 추출물이 G1기에서 세포주기를 억제할 가능성이 있음을 시사한다. 따라서 택란 메탄올 추출물이 MCF-7 세포의 G1 세포주기를 실제로 억제할 수 있는지에 대한 추가 연구가 진행되어야 할 것이다.

기 보고된 연구에 따르면, 택란 추출물을 인간 비만세포인 HMC-1과 인간배정맥상피세포인 HUVEC 세포에 각각 처리하였을 때, 세포의 손상없이 항알러지 효과와 항염증 효과가 있다고 보고되었다 (Shin et al., 2005; Lee et al., 2008). 이는 택란 추출물이 암세포가 아닌 정상 세포에는 안정성을 가짐을 간접적으로 시사한다.

본 연구의 결과를 통해 택란 추출물이 기존의 보고된 항염증, 항알러지, 항산화 효과 외에 인간 유방암 세포인 MCF-7 세포에서 항암효과가 있음이 입증되었다. 택란이 함유하고 있는 대표적인 성분은 세 종류의 페놀류 (rosmarinic acid, methyl rosmarinate, ethyl rosmarinate) 그리고 두 종류의 플라보노이드 성분 (luteolin, luetolin-7-*O*-beta-D-Glucuronide methyl ester)이라고 알려져 있다 (Lee et al., 2008). 향후 이어지는 연구에서 이들 유효성분들의 유방암 세포에서의 항암효과가 면밀히 조사된다면 본 연구를 더욱 발전시키는 계기가 될 것이며, 나아가 유방암 제어를 위한 약물개발 연구를 촉진시킬 수 있을 것이다.

REFERENCES

Au JL, Panchal N, Li D, Gan Y. Apoptosis: a new pharmacodynamic endpoint. Pharm Res. 1997. 14: 1659-1671.

Bold RJ, Termuhlen PM, McConkey DJ. Apoptosis, cancer and cancer therapy. Surg Oncol. 1997. 6: 133-142.

Cho JH, Cho SD, Hu HB, Kim SH, Lee YS, Kang KS. The roles of erk1/2 and p38 map kinases in the preventive mechanisms of mushroom phellinus linteus against the inhibition of gap junctional intercellular communication by hydrogen peroxide. Carcinogenesis. 2002. 23: 1163-1169.

Choudhuri T, Pal S, Agwarwal ML, Das T, Sa G. Curcumin induces apoptosis in human breast cancer cells through p53-dependent bax induction. FEBS Letters. 2002. 512: 334-340.

Cory S, Adams JM. The bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. Nat Rev Cancer. 2002. 2(9): 647-656.

Edinger AL, Thompson CB. Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy. Current Opinion in Cell Biology. 2004. 16: 663-669.

Grube BJ, Eng ET, Kao YC, Kwon A, Chen S. White button mushroom phytochemicals inhibit aromatase activity and breast cancer cell proliferation. J Nutr. 2001. 131: 3288-3293.

Hartwell LH, Kastan MB. Cell cycle control and cancer. Science. 1994. 266: 1821-1828.

Hsieh TC, Lu X, Chea J, Wu JM. Prevention and management of prostate cancer using pc-spes: A scientific perspective. J Nutr. 2002. 132: 3513S-3517S.

Hu HB, Ahn NS, Yang X, Lee YS, Kang KS. Ganoderma lucidum extract induces cell cycle arrest and apoptosis in mcf-7 human breast cancer cell. Int J Cancer. 2002. 102: 250-253.

Hulka BS, Moorman PG. Breast cancer: hormones and other risk factors. Maturitas. 2001. 38: 103-116.

Jo EH, Kim SH, Ra JC, Kim SR, Cho SD, Jung JW, Yang SR, Park JS, Hwang JW, Aruoma OI, Kim TY, Lee YS, Kang KS. Chemopreventive properties of the ethanol extract of chinese licorice (glycyrrhiza uralensis) root: induction of apopotsis and g1 cell cycle arrest in mcf-7 human breast cancer cells. Cancer Letters. 2005. 230: 239-247.

Kamesaki H. Mechanisms involved in chemotherapy-induced apoptosis and their implications in cancer chemotherapy. Int J Hematol. 1998. 68: 29-43.

Kitts DD, Lim KT. Antitumorigenic and cytotoxic properties of an ethanol extract derived from rhus verniciflua stokes (rvs). J Toxicol Environ health A. 2001. 64: 357-371.

Kroemer G, Petit P, Zamzami N, Vayssiere JL, Mignotte B. The biochemistry of programmed cell death. Fed Am Soc Exp Biol J. 1995. 9: 1277-1287.

Lee YJ, Kang DG, Kim JS, Lee HS. Lycopus lucidus inhibits high glucose-induced vascular inflammation in human umbilical vein endothelial cells. Vascular Pharmacology. 2008. 48: 38 -46.

Lee WS, Im KR, Park YD, Sung ND, Jeong TS. Human acat-1 and acat-2 inhibitory activities of pentacyclic triterpenes from the leaves of lycopus lucidus turcz. Biol Pharm Bull. 2006. 29(2): 382-384.

Lockshin RA, Zakeri Z. Apoptosis, autophagy, and more. The Int J Biochem & Cell Biol. 2004. 36: 2405-2419.

Otin CL, Diamandis EP. Breast cancer and prostate cancer: an analysis of common epidemiological, genetic, and biochemical features. Endocr Rev. 1998. 19: 365-396.

Park JH. Medicinal plants of Korean. 2004. pp. 1171-1173 Shinil Books. Seoul, Korea.

Ricci MS, Zong WX. Chemotherapeutic approaches for targeting cell death pathways. The Oncologis. 2006. 11: 342-357.

Shin TY, Kim SH, Suk KH, Ha JH, Kim IK, Lee MG, Jun CD, Kim SY, Lim JP, Eun JS, Shin HY, Kim HM. Anti-allergic effects of lycopus lucidus on mast cell-mediated allergy model. Toxicology and Applied Pharmacology. 2005. 209: 255-262.

Smigal C, Jemal A, Ward E, Cokkinides V, Smith R, Howe HL, Thun M. Trends in breast cancer by race and ethnicity: update 2006. CA Cancer J Clin. 2006. 56: 168-183.

Sun J, Liu RH. Cranberry phytochemical extracts induce cell cycle arrest and apoptosis in human mcf-7 breast cancer cells. Cancer Letters. 2006. 241: 124-134.

Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. Science. 1995. 267: 1456-1462.

Wan CK, Wang C, Cheung HY, Yang M, Fong WF. Triptolide induces bcl-2 cleavage and mitochondria dependent apoptosis in p53-deficient hl-60 cells. Cancer Letters. 2006. 241: 31-41.

Yang HL, Chen CS, Chang WH, Lu FJ, Lai YC, Chen CC, Hseu TH, Kuo CT, Hseu YC. Growth inhibition and induction of apoptosis in mcf-7 breast cancer cells by antrodia camphorata. Cancer Letters. 2006. 231: 215-227.

Yang L, Wu S, Zhang Q, Liu F, Wu P. 23,24-Dihydrocucurbitacin b induces g^2/m cell-cycle arrest and mitochondria-dependent apoptosis in human breast cancer cells (bcap37). Cancer Letters. 2007. 256: 267-278.

Yun Y, Han S, Park E, Yim D, Lee S, Lee CK, Cho K, Kim K. Immunomodulatory activity of betulinic acid by producing pro-inflammatory cytokines and activation of macrophages. Arch Pharmacal Res. 2003. 26: 1087-1095.