

## 천화분 약침액의 A549 폐암 세포주에서 apoptosis 유발효과

최태연<sup>1</sup> · 이성원<sup>1</sup> · 류연희<sup>2</sup> · 반효정<sup>1</sup> · 서근영<sup>1</sup> · 김재효<sup>1,3</sup> · 안성훈<sup>1,3</sup> · 손인철<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>원광대학교 한의과대학 경혈학교실, <sup>2</sup>한국한의학연구원, <sup>3</sup>원광대학교 한국전통의학연구소

### The Induction Effect of Apoptosis in A549 Human Lung Cancer Cells by the *Trichosanthes Kirilowii* Pharmacopuncture Solution

Tae-Yeon Choi<sup>1</sup>, Sung-Won Lee<sup>1</sup>, Yeon-Hee Ryu<sup>2</sup>, Hyo-Jeong Ban<sup>1</sup>,  
Geun-Young Seo<sup>1</sup>, Jae-Hyo Kim<sup>1,3</sup>, Seong-Hun Ahn<sup>1,3</sup>, In-Chul Sohn<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Dept. Of Meridian & Acupoint, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

<sup>2</sup>Division of Standard Research, Acupuncture, Moxibustion and Meridian Research Center,  
Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon, Korea

<sup>3</sup>Research Center of Korean Traditional Medicine, Wonkwang University

#### Abstract

**Objectives** : In order to confirm the anti-cancer effect of *Trichosanthes kirilowii* pharmacopuncture fluid, this study was proceeded.

**Methods** : A549 lung cancer cells were cultured to be treated by *Trichosanthes kirilowii* pharmacopuncture fluid as dose dependent manner for 72 hours. And then the cell viability, nucleus fragmentaion, p21 and p53 protein expression, Bcl-2 and Bax protein expression, procaspase-3 PARP protein expression.

#### Results :

1. *Trichosanthes kirilowii* pharmacopuncture fluid decrease A549 cell viability as dose dependent manner.
2. *Trichosanthes kirilowii* pharmacopuncture fluid induced the nucleus fragmentation in A549 lung cancer cells as dose dependent manner.
3. *Trichosanthes kirilowii* pharmacopuncture fluid increase the p21 and p53 protein expression.
4. *Trichosanthes kirilowii* pharmacopuncture fluid decrease the Bcl-2 protein expression but cannot affect the Bax protein expression.
5. *Trichosanthes kirilowii* pharmacopuncture fluid increase the activation of caspase-3 and PARP protein.

**Conclusions** : As the above results, it was concluded the *Trichosanthes kirilowii* pharmacopuncture fluid had the anti-cancer effects to induce apoptosis.

**Key words** : *Trichosanthes kirilowii*, pharmacopuncture, A549, lung cancer, apoptosis

## 1. 서 론

하늘타리(*Trichosanthes kirilowii* Maxim, Cucurbitaceae)는 동남아 일대 및 우리나라 전역, 특히 제주도의 수림에 많이 자생하는 다년생 초본 식물이다<sup>1)</sup>. 하늘타리는 7-8월에 흰색으로 개화하며, 10월에 타원형의 황색과실이 열리고, 줄기는 덩굴이며, 뿌리는 굵고 크고, 잎은 5개로 심장모양이다<sup>2)</sup>.

· 교신저자: 손인철, 344-2 Shinyong-dong, Iksan, Jeonbuk, Korea  
Dept. of Meridian & Acupoint, College of Oriental  
Medicine, Wonkwang University  
Tel. 82-63-850-6448, Fax. 82-63-857-6458  
E-mail: [ichsohn@wku.ac.kr](mailto:ichsohn@wku.ac.kr)

· 이 논문은 2010학년도 원광대학교의 교비지원에 의해서 수행됨  
· 투고 : 2010/11/03 심사 : 2010/11/29 채택 : 2010/12/08

하늘타리의 뿌리를 천화분(Trichosanthis Radix) 또는 팔루근이라 하며, 봄과 가을에 캐어 껍질을 벗겨 햇볕에 건조하는데, 이 천화분은 전분을 많이 함유하고 있으며, 익은 씨를 과루인(Semen Trichosanthis)이라 한다<sup>3-5)</sup>. 천화분은 한의학에서 질병치료에 이용하여 주로 消渴身熱 煩滿大熱 脣乾口燥 咳嗽의 治療 및 止小便利 通月水 等の 상기 목적을 가진 처방의 주된 약물로서 사용되어 왔다<sup>6-8)</sup>.

폐암이란 폐에 생긴 악성종양을 말하는 것으로 19세기까지만 해도 매우 드문 질환이었으나 20세기 들어 흡연이 보편화되면서 급격히 늘기 시작하여 우리나라에서도 폐암의 발생이 급격히 증가 추세에 있어 2002년 한국중앙암등록본부 연례보고서에 의하면 전체 암발생률 중 2위 차지하고 있다<sup>9)</sup>.

폐암의 양방적인 치료는 수술이나, 수술로는 완치가 불가능한 경우가 많아 항암화학요법 등이 병행하고 있으며 정상세포에 독성 및 심각한 부작용을 초래하고 있다<sup>10,11)</sup>. 따라서 독성과 부작용이 적으면서 항암효과를 나타내는 천연물을 찾아내기 위하여 많은 연구자들은 예로부터 비교적 안전하게 사용되었던 한약재를 이용한 항암 치료약제 및 항암 치료보조제 개발 연구를 활발하게 진행하고 있다.

세포사멸(apoptosis; Programed cell death)은 외부 자극에 대해서 세포내부에 존재하는 세포 신호 전달과정에 의해서 선택적으로 사멸하는 생리학적 과정으로 조직의 항상성 유지에 필수적인 작용<sup>12,13)</sup>이다. 세포사멸은 세포 내·외적인 신호에 의해서 Bcl-2 family 단백질<sup>14)</sup>과 caspase<sup>15,16)</sup>, 세포사멸억제 단백질(inhibitors of apoptosis protein)의 유기적인 상호작용에 의해 조절<sup>17,18)</sup>된다.

천화분에 대하여 최근 발표된 연구결과로는 이<sup>19)</sup> 등은 Ether와 alcohol 추출물에서 혈당저하작용을, 문<sup>20)</sup>은 MeOH 추출물로서 혈당저하 작용을, 고<sup>21)</sup> 등은 천화분 전분의 이화화학적 성질에 대한 연구를, 한<sup>22)</sup> 등은 카드뮴에 대한 독성억제효과를 보고하였으며, 김<sup>23)</sup>은 천화분 메탄올 추출물의 멜라

닌 형성 억제 효과를 보고하였다.

그러나, 천화분 약침액에 대한 폐암연구는 진행된 바가 미비하기에 세포생존율, Hoechst 33342 염색을 통한 핵의 분절화, 세포주기변화 분석, Bcl-2, Bax 등의 세포사멸 유관 단백질 수준을 조사하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재료

A549세포주는 한국세포주 은행(KCLB)에서, 세포배양에 사용한 RPMI 1640, Fetal bovine serum (FBS), penicillin-streptomycin, Trypsin-EDTA는 Gibco/BRL (Gaithersburg, MD, USA)에서, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT), Hoechst H 33258, propidium iodide와 본 연구에서 일반적인 시약은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서, Annexin V-FITC (fluorescein isocyanate)/propidium iodide(PI) apoptosis detection kit(BD bioscience, USA)은 BD Pharmingen (Franklin Lakes, NJ, USA)에서, Bcl-2, Bax, caspase-3, poly(ADP-ribose) polymerase(PARP)에 대한 antibody는 Santa Cruz Biotech(MA, USA)에서 구입하여 사용하였다.

### 2. 천화분 약침액 제조

본 연구에 사용된 생약재인 천화분은 (주)옴니허브에서 구입하여, 천화분 600g에 물 6,000 ml를 가하여 2시간 동안 끓인 후, 냉침 시켜 filter로 여과하여 감압 농축 후 시료를 얻어 냉장 보관하였으며, 시료는 분주하여 물에 녹인 후  $\Phi$  0.2 $\mu$ m 필터를 사용하였다.

### 3. 세포배양

세포는 RPMI1640 배지에 10% FBS, 100 units/ml penicillin과 100 µg streptomycin을 첨가한 세포 배양액을 사용하여 37°C, CO<sub>2</sub> incubator(5% CO<sub>2</sub>/95% air)에서 배양하였다.

#### 4. 세포생존율 측정

세포생존율 측정은 Mosmann<sup>24)</sup> 방법에 의하여 실시하였다. 24 well 배양용기에 HT-29세포를 5X10<sup>4</sup> cells/ml 개씩 분주하고 24 시간 후에 천화분 약침액을 농도별(0, 50, 100, 150, 200, 250, 300 µg/mL) 처리하고 72 시간 동안 배양한 후 상층액을 버리고 당일 제조한 0.05% MTT를 배양용기에 분주한 후 72 시간 동안 배양하였다. 상층액을 제거하고 실온에서 10 분간 DMSO에 formazan 침전물을 녹인 후 ELISA reader로 흡광도 570nm에서 측정하여 대조군과 비교하였다.

#### 5. Hoechst 33342 염색

HT-29 세포를 10% FBS가 첨가된 배지로 희석하여 5X10<sup>4</sup> cells/ml의 밀도로 6 cm dish에 분주한 후 24시간이 지난 후 천화분 약침액(0, 100, 200, 300 µg/mL)을 처리하였다. 천화분 약침액을 처리하여 세포를 72 시간 배양한 후 차가운 PBS로 세포단층을 씻어낸 후 4% formaldehyde로 세포를 고정하였다. 세포에 10 µg/mL Hoechst 33342 용액을 넣어 어두운 곳에서 1 시간 염색하였다. 세포를 PBS로 충분히 세척한 후 형광현미경으로 관찰하였다<sup>25)</sup>.

#### 6. 세포사멸 관련 단백질 수준 측정 (Western blot analysis)

HT-29 세포를 1×10<sup>6</sup> cell/dish의 밀도로 100mm dish에 분주하였고, 위의 방법대로 천화분 약침액을 처리하여 48시간 또는 72시간을 배양한 후 수거

하여, PBS로 2회 세척한 후 각각의 세포에 세포용해 완충용액(10mM Tris-HCl pH7.4, 150mM NaCl, 1mM EDTA, 1% Triton X, 1mM PMSF, 1µg/mL aprotinin, 1µg/mL leupeptin, 1mM DTT)을 첨가하여 세포를 용해하여 Bradford(Bio-rad, USA) 방법을 이용하여 단백질 정량을 하였다. 동일한 양의 단백질은 sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE)로 분리시킨 후, 단백질을 nitrocellulose membrane에 transfer하였다. 이 membrane을 항체의 비특이적 결합을 차단하기 위하여 blocking buffer(5% non-fat milk와 0.1% Tween 20을 함유한 TBS)에서 4시간 동안 반응시킨 후, 각 검증 단백질에 대한 항체를 가하여 4°C에서 overnight 하였다. 이어서 0.1% Tween 20을 함유한 TBST 용액으로 40분간 세척한 후 secondary antibody로 반응시켰다. 이어서 ECL western blotting detection reagent(Amersham)으로 반응 시킨 후 ChemiDoc image 분석기기(Bio-rad, USA)를 이용하여 관찰하였다.

#### 7. 통계처리

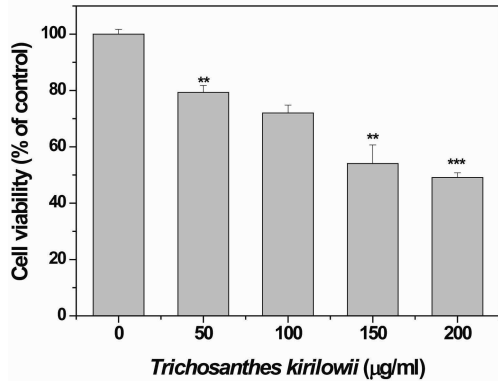
본 연구의 모든 분석 수치는 mean ± SE으로 나타내었다. 수집된 결과는 Origin 5.0 (USA)를 이용하여 분석되었으며, 각 실험군의 평균치간의 유의성은 Student's t-test를 이용하여 분석하였다.

### III. 실험 결과 및 고찰

#### 1. 천화분 약침액이 A549 세포증식에 미치는 영향

천화분 약침액을 A549 폐암 세포에 다양한 농도(0, 50, 100, 150, 200 µg/mL)로 첨가하여 72시간 배양한 후 MTT assay를 실시하여 살아 있는 세포를 측정하였다. A549 세포의 증식은 50 µg/mL 농도로 천화분 약침액을 처리한 경우 대조군에 비하

여 79.29 ± 0.25%의 세포수가 나타났으며, 100, 150, 200 µg/mL 농도로 천화분 약침액을 처리한 경우 72.00 ± 2.80, 54.07 ± 0.66, 49.10 ± 1.70%의 현저한 세포생존율이 감소하였다(Fig. 1). 이러한 결과로 천화분 약침액이 A549 폐암 세포의 증식을 억제할 수 있음을 확인하였다.



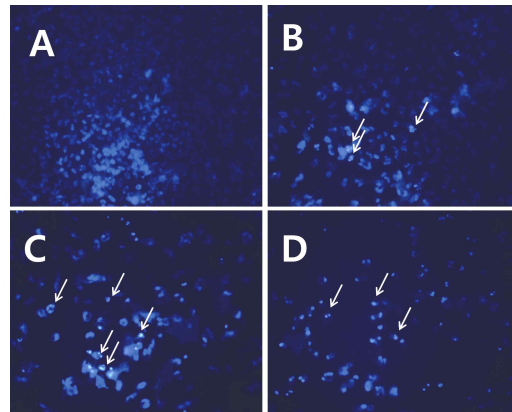
**Fig. 1. Effects of *Trichosanthes kirilowii* phamacopuncture fluid on the cell viability in A549 cells.**

A549 cells were plated in 24 well plates at  $5 \times 10^4$  cells/well in RPMI 1640 supplemented with 10% FBS. Cell viability were estimated by the MTT assay. Each bar represents the mean ± SD (n=6). Bars with \*, \*\*, \*\*\* are significantly different at  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$  by student's t-test on control group at the time point of 72 hr later.

## 2. 천화분 약침액에 의한 A549 세포 핵의 형태학적 변화

세포사멸(apoptosis, programmed cell death)은 유기체로 하여금 세포 숫자와 조직의 크기를 유지하며 세포내의 항상성을 유지하기에 필요한 조절 작용이다<sup>12)</sup>. 세포 사멸이 일어나면 형태학적 특징은 세포의 비중감소, 세포막의 파괴, 염색체의 응축 등과 더불어 세포내부의 물질들이 세포사멸체와 같은 형상의 출현이 증가한다. 이러한 특징을 알아보기 위하여 천화분 약침액을 농도별로 처리하고 72 시간 배양한 후 DNA에 특이적으로 결합하는 형광염색제인 Hoechst 33342를 사용하여 세포

사멸의 형태학적특징을 관찰한 결과 A549 폐암 세포는 천화분 약침액에 대하여 농도 의존적으로 정상 대조군에 비하여 세포 개체수의 감소, 세포의 크기가 축소되었으며, 핵의 모양이 불규칙하고 부분적인 핵의 응집현상을 관찰할 수 있었다(Fig. 2).



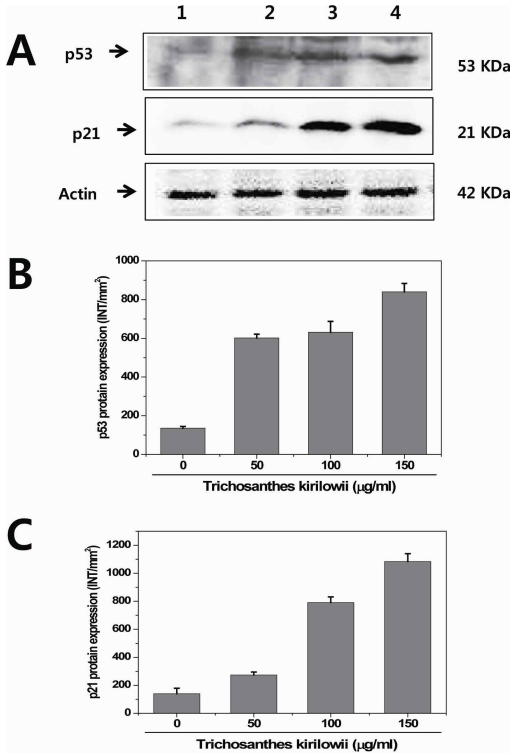
**Fig. 2. Effects of *Trichosanthes kirilowii* phamacopuncture fluid on the nucleus fragmentation of A549 cells.**

A : control, B ; 50 µg/ml, C ; 100 µg/ml, D ; 200 µg/ml of *Trichosanthes kirilowii* phamacopuncture fluid. Cell were fixed and stained with a DNA specific dye, Hoechst H 33258. Images were obtained using a fluorescence microscope. Arrows indicate DNA fragmentation. Microphotographs are representative of three independent experiments. Magnification, × 200.

## 3. 천화분 약침액이 p21과 p53 발현에 미치는 영향

p21 암유전단백질은 일반적으로 DNA 손상 이후 cyclin-dependent kinases를 억제하여 G1 arrest를 유발하는 세포주기 관련 유전단백으로 알려져 있으며, DNA가 손상되었을 때 활성화되는 p53에 의해 영향을 받는 것으로 알려져 있다<sup>27,28)</sup>. 천화분 약침액을 0, 50, 100, 150, 200 µg/ml의 농도로 72시간 배양한 후, p21 단백질 발현을 관찰하였다. 천화분 약침액 50 µg/ml 농도에서 p21 단백질 발현이 증가(Fig. 3, A)하였으며, p53 단백질 발현이 증가(Fig. 3, A)하였으며, 이러한 결과는 천화분 약침액

에 대하여 농도의존적으로 DNA 손상이 일어나고 있으며, A549 세포에서는 발생한 DNA 손상을 복구하려는 과정으로 생각된다.



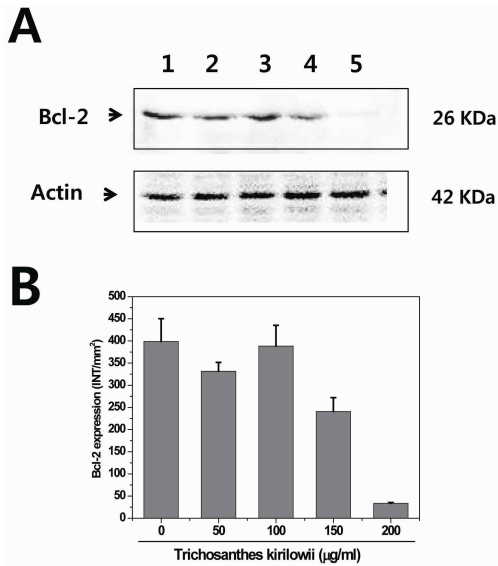
**Fig. 3.** Effects on *Trichosanthes kirilowii* phamacopuncture fluid on the expression of p53 and p21 protein in A549 cells.

1; control, 2; 50µg/ml, 3;100µg/ml, 4;150µg/ml A549 cell was cultured to 100 mm dish by density of 1X10<sup>6</sup> cell/dish. Photograph of chemiluminescent detection (ChemiDoc image analytical instrument, Amersham) of the blots, which were representative of three independent experiments, are shown (B).

#### 4. 천화분 약침액이 A549 세포에서 Bcl-2 발현에 미치는 영향

Bcl-2 family 단백질은 미토콘드리아 막 투과성을 조절하는 단백질로, 미토콘드리아 막에 존재하거나 세포사멸 유도신호에 의해 미토콘드리아 막

으로 이동하여 세포사멸을 조절하는 중요한 조절 인자이다. Bcl-2 family 단백질은 아미노산 서열의 유사성과 단백질의 기능에 따라 anti-apoptotic 단백질, pro-apoptotic 단백질 그리고 Bcl-2 homology domain(BH)3-only 단백질로 구분된다. Pro-apoptotic Bcl-2 family 단백질과 BH3-only Bcl-2 family 단백질은 미토콘드리아 막의 탈분극을 억제하여 막 투과성을 감소시켜 cytochrome C의 방출을 억제하여 세포사멸을 억제한다<sup>29)</sup>. 천화분 약침액이 Bcl-2 단백질 수준에 미치는 영향을 알아보기 위하여 A549 세포에 천화분 약침액을 0, 50, 100, 150, 200 µg/ml의 농도로 72시간 배양한 후, anti-apoptotic 단백질인 Bcl-2 단백질 발현을 관찰한 결과, 천화분 약침액 각 0, 50, 100, 150, 200 µg/ml 농도에서 Bcl-2 단백질 발현의 증가 또는 감소가 관찰되었다 (Fig. 4). Pro-apoptotic 단백질로 알려진 Bax의 경우, 감송향 약침액을 0, 50, 100, 150, 200 µg/ml의 농도에서 각각 Bax 단백질 발현의 증가 또는 감소가 관찰되지 않았다(data not show). 따라서 Bax의 발현 증가되지는 않았지만 Bcl-2의 감소로 미토콘드리아 막의 투과성을 증가시켜 cytochrome c의 방출을 증가시켜 세포사멸을 유도할 것으로 사료된다.



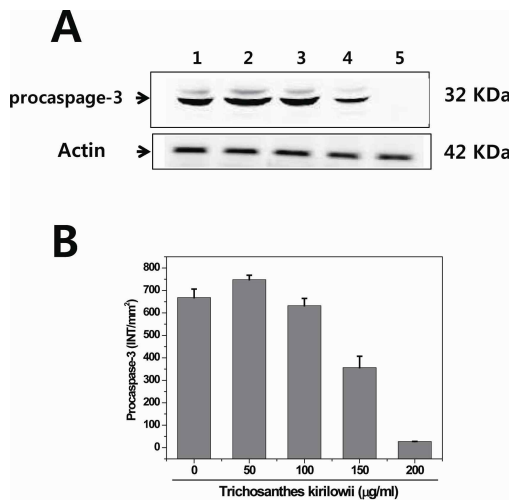
**Fig. 4.** Effects on *Trichosanthes kirilowii* phamacopuncture fluid on the expression of Bcl-2 protein in A549 cells.

A549 cell was cultured to 100 mm dish by density of  $1 \times 10^6$  cell/dish. Photograph of chemiluminescent detection (ChemiDoc image analytical instrument, Amersham) of the blots, which were representative of three independent experiments, are shown (B).

### 5. 천화분 약침액이 A549 세포에서 procaspase-3 발현에 미치는 영향

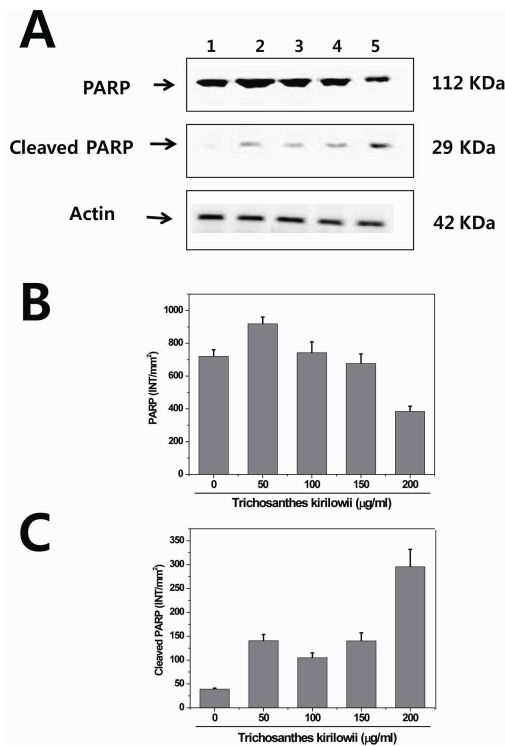
Caspase는 apoptosis 기작의 중심적인 요소로, tetrapeptide motif를 인식하여 기질을 절단하는 Cysteine aspartic acid proteases로 세포내에서 불활성 형태인 proenzyme으로 합성된 후 스스로 또는 다른 caspase에 의해 분절되어 활성화된다. Caspase는 initiator caspase와 effector caspase로 구분되며, initiator caspase는 death-inducing signal에 의해 활성화되어 effector caspase를 활성화하고 활성화된 effector caspase는 lamin A, a-fodrin, DNA fragmentation factor와 PARP 등의 단백질을 분해하여 세포사멸을 유도한다<sup>15,16</sup>. Caspase family 중 caspase-3 활성화정도를 알아보기 위하여 전구물질인 procaspase-3의 활성화정도를 측정하였다(Fig. 5). 천

화분 약침액을 0, 50, 100, 150, 200 µg/ml의 농도로 72시간 배양한 후, procaspase-3 단백질 발현을 관찰하였다. 천화분 약침액 각 0, 50, 100, 150, 200 µg/ml 농도에서 procaspase-3 단백질 발현의 감소가 관찰되었다(Fig. 6). 따라서, 이러한 관찰 결과는 caspase-3의 전구물질인 procaspase-3 단백질 발현이 감소되었으므로 caspase-3 단백질 발현이 증가되어 apoptosis가 유도되었을 것이라고 사료된다.



**Fig. 5.** Effects on *Trichosanthes kirilowii* phamacopuncture fluid on the expression of procaspase-3 protein in A549 cells.

A549 cell was cultured to 100 mm dish by density of  $1 \times 10^6$  cell/dish. A549 cell/dishes were cultured for 72 hours after dealing with *Trichosanthes kirilowii* phamacopuncture fluid by various different densities. Photograph of chemiluminescent detection (ChemiDoc image analytical instrument, Amersham) of the blots, which were representative of three independent experiments, are shown (B).



**Fig. 6.** Effects on *Trichosanthes kirilowii* phamacopuncture fluid on the expression of PARP and C-PARP protein in A549 cells.

A549 cell was cultured to 100 mm dish by density of  $1 \times 10^6$  cell/dish. Photograph of chemiluminescent detection (ChemiDoc image analytical instrument, Amersham) of the blots, which were representative of three independent experiments, are shown (B). The relative abundance of each band to its own  $\beta$ -actin was quantified and the control levels were set at 1.

## 6. 천화분 약침액이 A549 세포에서 PARP와 c-PARP 단백질 발현에 미치는 영향

핵에 존재하고 nicotinamide adenine dinucleotide (NAD<sup>+</sup>)에서 poly (ADP-ribose)의 생성을 촉매하는 효소로, DNA 수선에 관여하여 세포의 생존 유지에 중요한 역할을 담당하는 PARP는 caspase-3의 주요한 표적 단백질로 caspase-3에 의해 분절되면 불활성화 되어 세포의 분해를 촉진하여 세포사멸을 야기한다<sup>30,31</sup>. 천화분 약침액을 0, 50, 100,

150, 200  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 72시간 배양한 후, PARP와 cleaved-PARP 단백질 발현을 관찰하였다. 천화분 약침액 각 0, 50, 100, 150, 200  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 PARP 단백질 발현은 감소되는 결과가 관찰되었고, 이와 반대로 cleaved-PARP 단백질 발현의 증가가 관찰되었다(Fig. 6). 결과적으로 PARP의 활성화가 천화분 약침액의 농도증가에 따라 증가되는 점으로 보아 천화분 약침액은 PARP 활성화를 통하여 apoptosis를 유도하는 것으로 사료된다.

이상의 연구결과를 요약해보면 천화분 약침액은 농도의존적으로 세포생존율을 감소시키며 핵의 형태학상 변화에서는 핵의 분절화를 나타내고 있다. 또한 apoptosis 유관인자인 p21과 p53 단백질 발현의 증가를 가져오고, anti-apoptotic 인자인 Bcl-2 단백질 발현을 감소시키며 pro-apoptotic 인자인 Bax 단백질 발현에는 영향을 주지 못한다. Caspase-3와 PARP 활성화 증가를 통하여 apoptosis 유발효과가 있음이 검증되었으므로 천화분 약침액은 항암효과가 있는 것으로 사료된다.

## IV. 결 론

천화분 약침액의 항암효과를 확인하기 위하여 A549 폐암 세포를 배양한 후 천화분 약침액을 농도별로 처리하여 세포생존율, 핵모양, p21과 p53 단백질 발현, Bcl-2와 Bax 단백질 발현, procaspase-3와 PARP 단백질 발현 등의 변화를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 천화분 약침액은 농도의존적으로 세포생존율을 감소시킨다.
2. 천화분 약침액은 핵의 분절화를 일으킨다.
3. 천화분 약침액은 p21과 p53 단백질 발현의 증가를 가져온다.
4. 천화분 약침액은 Bcl-2 단백질 발현을 감소시키며, Bax 단백질 발현에는 영향을 주지 못한다.
5. 천화분 약침액은 Caspase-3와 PARP 활성화 증

가를 일으킨다.

이상의 연구결과로 천화분 약침액은 apoptosis 관련항암효과가 있는 것으로 사료된다.

## 참고문헌

1. Koh, J. S. A study on the utilization of *Trichosanthes kirilowii* root starch. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* 1981 ; 24 : 59-66.
2. Koh, J. S. and Kim, H. O. A study on the physicochemical properties of *Trichosanthes kirilowii* Max. starch. *J. Korea Agric. Chem. Soc.*, 1977 ; 20(3) : 292-5.
3. 문관심. 약초의 성분과 이용. 서울 : 일월서각. 1999 : 584-5.
4. Lim, S. J. and Choi, S. S. The Effect of *Trichosanthes kirilowii* Max. Subfractions on the insulin Activity in streptozotocin induced diabetic rats and their acute toxicity. *J. Korean Nutr. Soc.* 1997 ; 30(1) : 25-31.
5. Chung, Y. B. and Lee, C. C. Effect of poly-saccharide from *Trichosanthes kirilowii* on antidiabetic activity and glutathione metabolism in hyperglycemic rats. *Yakhak Hoeji.* 1995 ; 39(5) : 528-34.
6. 이시진. 본초강목(상책). 북경 : 문광원서공사. 1994 : 735
7. 허준. 동의보감. 서울 : 남산당. 1972 : 511.
8. 신배구. 신씨본초학각론. 서울 : 수문사. 1973 : 617.
9. 국립암센터. 암정보. 고양시 : 국립암센터. 2004 : 145-61.
10. Maroun JA, Anthony LB, Blais N, Burkes R, Dowden SD, Dranitsaris G, Samson B, Shah A, Thirlwell MP, Vincent MD, Wong R. Prevention and management of chemotherapy-induced diarrhea in patients with colo. *Curr Oncol.* 2007 ; 14 : 13-20.
11. De Gramont A, Figer A, Seymour M, Homerin M, Hmissi A, Cassidy J, Boni C, Cortes-Funes H, Cervantes A, Freyer G, Papamichael D, Le Bail N, Louvet C, Hendler D, de Braud f, Wilson C, Morvan F, Bonetti A. Leucovorin and fluorouracil with or with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2007 ; 18 : 2938-47.
12. Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature.* 2000 ; 407 : 770-6.
13. Wenzel U, Kuntz S, Brendel MD, Daniel H. Dietary flavone is a potent apoptosis inducer in human colon carcinoma cells. *Cancer Research.* 2000 ; 60 : 3823-31.
14. Korsmeyer SJ. Regulators of cell death. *Trends Genet.* 1995 ; 11: 101-5.
15. Jin Z, El-Deiry WS. Overview of cell death signaling pathways. *Cancer Biol Ther.* 2005 ; 4 : 139-63.
16. Debatin KM. Apoptosis pathways in cancer and cancer therapy. *Cancer Immunol. Immun.* 2004 ; 53 : 153-9.
17. Ambrosini G, Adida C, Altieri DA. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nat Med.* 1997 ; 3 : 917-21.
18. Altieri DC, Marchisio PC. Survivin apoptosis: an interloper between cell death and cell proliferation in cancer. *Lab Invest.* 1999 ; 79 : 1327-33.
19. 李敦日, 丁明鉉, 金成鎬, 李治榮. 제약연구. 광주 : 조선대학교제약연구소. 1978 : 5.
20. 문석재. 천화분 Extract의 가토혈당 농도에 미치는 영향에 관한 연구. *동의의학.* 1982 ; 7(1) : 38-45.



21. 고정삼, 김형옥. 천화분 전분의 이화학적 성질에 관한 연구. 한국 농화학지. 1977 ; 20(3) : 292-95.
22. 한두석 백승화 이정호, 김신기, 유일수, 이기남, 정우영. 천화분 카드뮴에 대한 독성억제효과(Ⅲ). 생약학회지. 2001 ; 32(1) : 15-21.
23. 김정근. 천화분 메탄올 추출물의 멜라닌형성 억제 효과. 익산 : 원광대학교 학위논문. 2001.
24. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for the cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxic assay. J. Immun. Methods. 1983 ; 65 : 55-63.
25. Jung JI, Lim SS, Choi HJ, Cho HJ, Shin HK, Kim Rj, Chung WY, Park KK, Park JHY. Isoliquiritigenin induces apoptosis by depolarizing mitochondrial membranes in prostate cancer cells. J. Nutr. Biochem. 2006 ; 17 : 689-96.
26. 김병지, 문구, 위암의 동서의학적 진척개황. 대한한의학회지. 1996 ; 17 : 100-16.
27. Stoler DL, Chen N, Basik M, Kahlenbergg MS, Rodriguez-Bigas MA, Petrelli NF, et al. The onset and extent of genomic instability in sporadic colorectal tumor progression. Proc Natl Acad Sci USA. 1999 ; 96 : 15121-6.
28. Bunz F, Dutriaux A, Lengauer C, Waldman T, Zhou S, Brown JP, et al. Requirement for p53 and p21 to sustain G2 arrest after DNA damage. Science. 1998 ; 282 : 1497-501.
29. Yao J, Jiang Z, Duan W, Huanq J, Zhang L, He L, Li F, Xiao Y, Shu B, Lin C. Involvement of mitochondrial pathway in triptolide-induced cytotoxicity in human normal liver L-02 cells. Biol Pharm Bull. 2008 ; 31 : 592-7.
30. Oliver JM. Importance of poly(ADP-ribose) polymerase and its cleavage in apoptosis. Lesson from an uncleavable mutant. J. Biol. Chem. 1998 ; 273 : 33533-9.
31. Oilver FJ, de la Rubia G, Rolli V, Ruiz-Ruiz MC, de Murcia G, Murcia JM. Importance of poly(ADP-ribose) polymerase and its cleavage in apoptosis. Lesson from an uncleavable mutant. J Biol Chem. 1998 : 273.