

흰쥐의 손상된 뇌조직에서의 유전자 발현 변화에 대한 紅花 추출물 투여의 작용

김부여^a, 임세현^b, 이금산^c, 김형우^c, 임지연^d, 조수인^c
^a한국원자력의학원 분자암연구실, ^b고려대학교 간호대학,
^c부산대학교 한의학전문대학원, ^d동국대학교 대학원 의학과

Genome Wide Expression Analysis of the Restored Changes by Carthami Flos Extract Treatment on Rat Brain Injury

Bu-yeo Kim^a, Se-hyun Lim^b, Guem-san Lee^c, Hyung-woo Kim^c, Chi-yeon Lim^d, Su-in Cho^c
^aLaboratory of Radiation Molecular Cancer, Korea Institute of Radiological and Medical Sciences
^bCollege of Nursing, Korea University
^cSchool of Korean Medicine, Pu-San National University
^dDept. of Medicine, Graduate School, Dong-Guk University

ABSTRACT

Objectives : The source is from the flower of *Carthamus tinctorius* L., family Compositae. It is used in clinical medicine to promote blood circulation, remove blood stasis, promote menstruation and alleviate pain. In the present study, we investigated the genome wide analysis of Carthami Flos on the intra-cranial hemorrhage(ICH) model.

Methods : ICH in rat was induced by injection of collagenase type IV and Carthami Flos extract(CFe) was administered orally. The molecular profile of cerebral hemorrhage in rat brain tissue was measured using microarray technique to identify up- or down- regulated genes in brain tissue.

Results : Expression profile showed that diverse genes were up- or down-regulated by ICH induction. Administration of CFe restored the expression level of some of altered genes by ICH to normal expressional level. Interestingly, these recovered genes by CFe were involved in the same biological pathways which were significantly activated or suppressed by ICH.

Conclusion : The above results might explain the therapeutic mechanism of CFe on ICH. Further, by analyzing interaction network, core genes was identified which could be key molecular targets of CFe against ICH.

Key words : Genome wide expression analysis, Carthami Flos, rat brain injury

1. 서 론

2000년부터 2008년까지 최근 9년 동안, 악성 신 생물, 뇌혈관 질환 및 심장 질환은 사망 원인 순위

를 1위부터 3위까지 변함없이 차지하고 있으며, 뇌 혈관 질환과 심장 질환을 순환기계통 질환으로 포괄적으로 추산하였을 경우, 사망률 1위를 유지해온 신생물과 거의 동일한 정도의 사망률을 보이고 있다. 더욱이 이로 인한 연령별 사망률은 60대 이후 급증하고 있으며, 흡수관, 생활 패턴 등 환경의 변화로 인해 청장년층에도 호발하는 등 사회적으로 많은 문제를 야기할 질환군으로 분류되고 있다¹.

· 교신저자: 조수인 경남 양산시 물금읍 범어리
부산대학교 한의학전문대학원
TEL: 051-510-8457 FAX: 051-510-8420
E-mail: sicho@pusan.ac.kr

한의학에서는 뇌혈관 질환을 포함한 순환기계 질환의 가장 주된 원인인 혈전 및 이로 인한 증상들을 瘀血의 범주에 포함시켰으며^{2,3}, 血의 운행이 장애를 받아 정상적인 경로를 벗어났거나 혹은 운행이 순조롭지 못하여 經脈이나 臟腑에 阻滯된 상태를 서양의학적인 혈전과 유사하다 하였고^{4,5}, 임상에서 환자에게 活血化瘀하는 약재 또는 처방을 주로 투약하였을 뿐만 아니라 최근의 연구에서도 관련된 약물들에 관한 내용들이 발표되고 있다.

活血化瘀의 효능이 있는 한약재 중 임상에서 활용 빈도가 높은 약재인 紅花는 국화과에 속한 1년생 초본인 잇꽃 *Carthamus tinctorius* L.의 花瓣으로, 성질은 따뜻하고 독성은 없는 것으로 알려져 있으며, 발산하는 작용을 가져 活血通經 등의 효능으로 인해 經閉·痛經·惡露不行·腹痛 등의 병증뿐만 아니라 각종 瘀血阻滯로 인한 瘀血疼痛·跌撲損傷 등의 병증의 치료에 활용되어지는 등 임상에서 순환기계 질환의 치료에 많이 사용되고 있다⁶⁻⁸.

紅花는 전당을 통한 복용뿐만 아니라 약침 제제로도 개발되어 동물 실험을 통해 진통 및 항혈전 효과가 확인된 바 있는데⁹, 紅花의 瘀血阻滯 병증 개선 효과를 확인하기 위해 본 연구의 모델로 사용된 뇌출혈의 경우, 서양의학에서는 혈압을 정상으로 유지시키면서 두개 내 압력을 저하시키는 약물 투여 및 수술을 통한 혈종 제거 방법이 한의학에서 瘀血阻滯 및 기타 血의 운행 장애로 인한 병증의 치료에 紅花를 활용하는 것과 의미가 통하는 것으로 생각된다.

저자들은 瘀血阻滯 및 血의 운행 장애에 해당하는 병증인 뇌출혈 모델을 흰쥐에 적용하여 紅花 추출물의 투여로 인해 기능 회복을 확인하고자 하였으며, 선행 연구를 통해 Ngf 등과 같은 단백질이 중심체로 작용할 가능성이 있다는 결과를 발표한 바 있으나, 이러한 연구 결과는 단백질 분석에 제한되어 있으므로 본 연구에서는 뇌조직 손상과 회복에 관여하는 중심 역할을 하는 유전자들과 이들이 관여하는 pathway의 직접 분석을 시도하였다.

또한 한약재는 단일 약재라 하더라도 다양한 성분을 함유하고 있는 복합체제의 특성을 가지기 때문에 약물의 효능 발현 기전을 확인하기 어려운데, 대용량 분석 기법의 활용이 한약재 작용 기전 연구에 효과적으로 활용할 수 있는 될 수 있을 것으로 생각되어 유전자의 발현 변화를 확인하여 그 결과를 보고하는 바이다.

II. 연구 재료 및 방법

1. 실험용 동물 및 약재

본 연구에 사용된 실험용 동물은 생후 8주령 된 체중 200±20g의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 전문업체(대한실험동물, 한국)에서 공급받아 고품사료(삼양사료, 한국)와 1차 증류수를 충분히 공급하면서 2 주일 이상 실험실 환경에 적응시킨 후 사용하였다. 실험 동물은 정상군, 대조군 및 실험군으로 나누어 각 군에 8 마리씩 무작위로 배정하였다.

실험에 사용된 紅花는 시중(전남생약, 한국)에서 구입하여 정선한 후 사용하였는데, 추출 과정을 간략히 기술하면, 紅花 100 g을 증류수 1,500 ml과 함께 전기 약탕기(DWP-1800T, 대웅, 한국)로 100°C에서 2 시간 전탕한 후 추출액을 냉장원심분리기(VS6000CFN, Vision과학, 한국)로 1,300×g에서 50 분간 원심분리하여 얻어진 상층액을 rotary vacuum evaporator(EYELA, 일본)에서 감압농축하고 이를 -84°C deep freezer(DF8514, 일신, 한국)에서 1시간 동안 방치하고, freeze dryer(SFDSM06, 삼원, 한국)로 동결건조하여 약 20 g의 건조 추출물(CFe)을 얻었다. 이를 냉동실에 보관하였다가 실험 직전에 필요한 농도로 1차 증류수에 녹여 투여액으로 사용하였다. CFe는 뇌출혈 유발 전후 각각 5일, 모두 10일 동안 실험군에 경구 투여되었으며, 1 일 투여된 CFe는 100 mg/kg 농도로 이는 인체를 기준으로 약 3배량에 해당하는 농도이다.

2. 뇌출혈 유발과 CFe의 투여

흰쥐를 $22\pm 1^\circ\text{C}$ 의 일정한 온도와 12시간 light/dark 주기에 사육하였고, chloral hydrate(400mg/kg, Fluka, 독일)를 복강 내에 주입하여 마취를 유도하였다. 대조군과 실험군에 적용된 뇌출혈은, 27 gauge의 스테인리스 주사침을 흰쥐의 우측 striatum(정중선의 3 mm 측방 및 시상봉합의 0.2 mm 전방 부위)에 삽입하여 5 μl 생리식염수에 1 unit의 collagenase type IV (Sigma, St. Louis, MO, USA)가 희석되어진 용액을 마이크로 펌프를 이용하여 0.4 $\mu\text{l}/\text{min}$ 의 속도로 주입하여 유도하였다. 정상군에서는 뇌출혈을 유발하지 않고, striatum에 생리식염수만을 주입하였다. Striatum 부위 시술이 끝난 후에는 피부를 봉합하고 항생제를 투여한 후 cage에서 사료와 물을 자유로이 섭취하도록 하였다.

3. 유전자 발현 변화 분석을 위한 과정

1) RNA 분리

뇌출혈을 유발시킨 후 6일째에 흰쥐를 경추탈구로 희생시켜 우측 뇌실을 분리한 즉시 드라이아이스로 동결시킨 후 초저온 (-80°C) 냉동고에 보관하였다. 이후 전RNA를 동결조직에서 분리하였는데, 이것은 사용한 시약 제조업체(Qiagen, USA)에서 첨부한 매뉴얼에 따라 이루어졌으며, 전RNA를 아가로스 겔 상에서 전기영동한 후 28S/18S RNA의 비율을 측정하여 정도 관리하였다.

2) DNA 칩 실험

45K oligo-chip을 사용하였으며, 탐침 준비와 혼성화 반응은 3DNA array detection system(Genisphere, PA)을 이용하여 수행하였다. 형광 표지된 cDNA 제작시 20 μg 전RNA를 사용하였으며, array를 씻어낸 후 ScanArray scanner(Perkin-Elmer, Boston, MA)로 스캔하였다. 정상군의 뇌조직에서 추출한 RNA를 reference로 사용하여 DNA 칩상의 대다수 cDNA spots(85% 이상)이 검출됨을 확인하였다.

3) 데이터 분석

이미지 파일에서 IMAGEGENE 4.0(Bio-discovery, Marina del Rey, CA)를 사용하여 1차 데이터를 얻

은 후, lowess method를 사용하여 오차를 줄이기 위한 표준화를 시행하였다¹¹.

모든 칩의 spot에서 각 채널의 형광 강도가 배경의 형광 강도보다 1.4배 더 큰 경우에만 제대로 측정된 것으로 판단하여 선별하였고, 시료에서 제대로 측정되지 않은 것은 제외시켰다. 발현 비율은 CLUSTER를 이용하여 순차적 클러스터링한 후 TREEVIEW(M.B. Eisen, <http://rabam.lbl.gov>) 20)를 이용하였다. 유전자의 생물학적 pathway 분석은 최근 발표된 signaling pathway impact analysis (SPIA) 방법을 사용하였으며¹² Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes(KEGG) 데이터베이스(<http://www.genome.jp/kegg/>)에서 제공하는 pathway 정보를 이용하였다¹³. SPIA 분석은 두 종류의 통계적 수치를 이용하는데, P_{NDE} 는 특정 pathway의 over-representation을 측정하며, P_{TERT} 는 특정 pathway의 perturbation을 측정한다. 이 두 종류의 측정치를 바탕으로 P_G 수치를 계산한 뒤 multiple correction을 위해서 Bonferroni 와 false discovery rate(FDR)를 적용하였다. 단백질 상호작용 분석을 위해서는 BOND 데이터베이스(<http://bond.unleashedinformatics.com>)에서 얻어진 단백질 네트워크 자료를 사용하였으며, 네트워크의 시각적 분석을 위해서 cytoscape program(버전 2.6)을 이용하였다¹⁴.

III. 결 과

1. 유전자 발현 패턴 분석

뇌출혈을 유발시킨 뇌조직과 CFe를 투여 한 흰쥐의 뇌조직에서의 유전자 발현 패턴을 조사한 결과 뇌출혈을 유발시킨 뇌조직에서 많은 수의 유전자의 발현이 증가 또는 감소한다는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 1A). 또한 CFe를 투여했을 때 뇌출혈 유발에 의해 변화를 보인 유전자들의 발현이 다양하게 변화하였다는 것을 확인하였다. 이들 유전자 중에서 CFe 투여에 의해 발현이 정상수준으로 복귀한 유전자들을 분석대상으로 하였는데, Fig.

1B(157 유전자) 및 1C(282 유전자)는 각각 뇌출혈 유발에 의해 발현이 증가 또는 감소되었다가 CFe 투여에 의해 발현이 정상으로 복귀한 유전자들의 발현 그래프이다. 이들 유전자 중에서 발현 변화가 가장 큰 상위 5개씩의 유전자의 리스트가 Table 1에 표기되어 있다.

2. Pathway 분석

뇌출혈 유발에 의해 발현이 변화한 유전자들의 생물학적 의미를 해석하기 위해서 최근에 보고된 분석프로그램인 SPIA를 이용하여 pathway 분석을 수행하였다. 본 연구에 나타내지는 않았지만 뇌출혈을 유발한 뇌에서 olfactory transduction과 colorectal cancer pathway가 통계적으로 유의한 수준으로 활성 변화가 있다는 것을 알 수 있었으며, CFe 투여에 의해 발현이 정상으로 돌아온 유전자들을 대상으로 동일한 pathway 분석을 수행한 결과 olfactory transduction pathway가 관여되었다는 것을 확인하였다. 이들 pathway 외에도 뇌출혈 유발에 의해 통계적으로 의미 있게 변화하는 상위 pathway 리스트를 Table 2에, CFe 투여에 의해 정상으로 돌아오는 유전자들이 관여된 pathway를 Table 3에 표기하였다. 특히 CFe 투여에 의해 변화된 상위 3개의 pathway인 olfactory transduction, colorectal cancer, 및 Thyroid cancer pathway가 각 유전자의

활성화 상태에 맞춰서 Fig. 2에 표시되어 있다. 적색 표시는 해당 유전자의 발현 증가를 청색표시는 발현 감소를 의미하며, 이들 유전자들의 작용에 의해 해당 pathway가 활성화 또는 억제됨을 확인 할 수 있다.

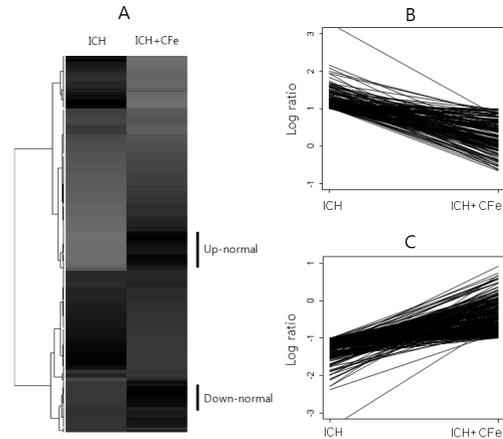


Fig. 1. Profile of gene expression after ICH and administration of CFe.

Total 1,401 genes whose expression ratio showed at least two fold changes were only included in hierarchical clustering (A). Right bar(Up-normal and Down-normal) indicates genes whose expression were restored to normal level by administration of CFe. Expression levels of these recovered genes were plotted in B(157 genes) and C(282 genes).

Table 1. List of genes whose expression were restored to normal level by administration of CFe

Name	Unigene	ICH*	ICH+CFe*	Status
Ttc30a1	Rn.46598	4.03	0.816	Increase-Normal
Wdr46	Rn.104783	2.17	0.359	Increase-Normal
Olr371	Rn.141680	2.08	-0.00891	Increase-Normal
Calm1	Rn.4166	2.00	0.858	Increase-Normal
Pdpx	Rn.9374	1.95	0.879	Increase-Normal
Pmch	Rn.9675	-3.39	-0.648	Decrease-Normal
RGD1563270	Rn.58313	-2.37	-0.861	Decrease-Normal
Nkx2-1	Rn.34265	-2.28	0.213	Decrease-Normal
Slc17a6	Rn.19372	-2.28	0.683	Decrease-Normal
Zic4	Rn.32625	-2.12	0.0373	Decrease-Normal

* Logarithm of base 2

Table 2. List of pathways restored to normal level by treatment of CFe

Pathway	KEGG ID	PNDE	PPERT	PG	Status after ICH
Up regulated pathway by ICH					
Olfactory transduction	04740	0.559	0.000	3.85e-05	Activated
Colorectal cancer	05210	0.597	0.000	4.097e-05	Inhibited
Thyroid cancer	05216	0.00619	0.125	6.32e-03	Inhibited
Glioma	05214	0.888	0.002	1.30e-02	Activated
Wnt signaling pathway	04310	0.287	0.007	1.44e-02	Inhibited
Cytokine-cytokine receptor interaction	04060	0.0186	0.208	2.54e-02	Activated
Calcium signaling pathway	04020	0.0569	0.111	3.83e-02	Inhibited
Down regulated pathway by ICH					
Olfactory transduction	04740	0.541	0.000	3.74e-05	Activated
Colorectal cancer	05210	0.420	0.001	3.68e-03	Inhibited
Thyroid cancer	05216	0.0128	0.0820	8.25e-03	Inhibited
Melanogenesis	04916	0.0298	0.0580	1.27e-02	Inhibited
Wnt signaling pathway	04310	0.258	0.0100	1.79e-02	Inhibited

Table 3. List of genes showing high edges numbers among genes whose expression were restored to normal level by administration of CFe

Name	Unigene	Number of edges	Name	Unigene	Number of edges
Up regulated by ICH			Down regulated by ICH		
CALM1	Rn.4166	60	GTF2B	Rn.6109	30
VAV1	Rn.48861	59	SNAP23	Rn.14789	40
CALR	Rn.974	30	PRKCD	Rn.98279	28
VAMP2	Rn.12939	19	ORC5L	Rn.144844	22
TCF4	Rn.23354	18	NFE2L2	Rn.93200	22
ITGAM	Rn.54465	15	ORC4L	Rn.137519	20
DSP	Rn.54711	15	VAV3	Rn.103770	18
NAPA	Rn.31745	13	RET	Rn.11127	16
PKD1	Rn.127770	13	SDC2	Rn.10867	15
DLGAP1	Rn.90059	11	GSN	Rn.27881	12

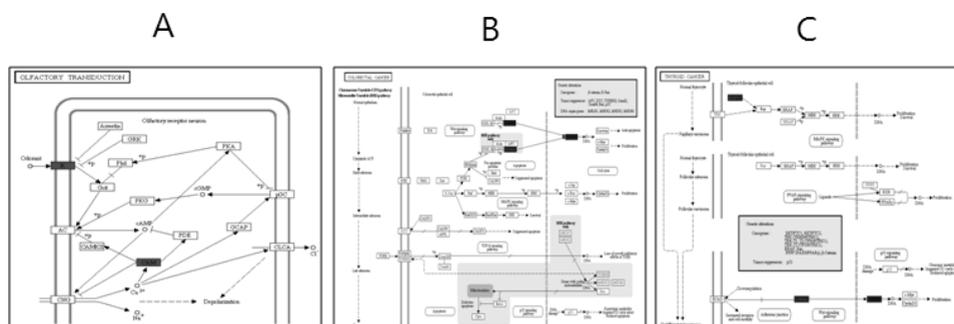


Fig. 2. Pathways restored to normal level by administration of CFe.

Top 3 significant pathways, olfactory transduction pathway (A), colorectal cancer pathway (B), and thyroid cancer pathway were depicted. Red and blue color represent up- and down-regulation of genes after ICH but restored by CFe.

3. 유전자 상호 작용 분석

CFe 투여에 의해 발현 수준이 정상으로 복귀한 유전자들 중 단백질 수준에서 서로 많은 상호 작용을 하는 유전자를 선별하기 위한 분석을 수행하였다. 뇌출혈 유발에 의해 발현이 증가하였다가 CFe 투여에 의해 정상수준으로 돌아온 유전자들의 단백질 상호작용 네트워크가 Fig. 3A에, 뇌출혈 유발에 의해 발현이 감소하였다가 CFe 투여에 의해 정상수준으로 돌아온 유전자들의 단백질 네트워크가 Fig. 3B에 나와 있다. 황색으로 표시된 node는 상호작용 edge수가 10 이상인 node로써 CFe의 분자적 효과의 주요 단백질로 작용할 가능성이 높다고 할 수 있으며 이 중에서 상위 10개의 리스트는 Table 3에 표기되어 있다.

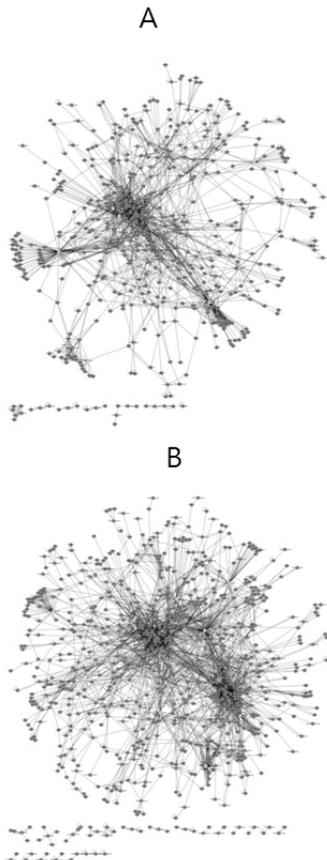


Fig. 3. Interaction network analysis of restored genes by administration of CFe.

Restored genes from up-regulation by ICH and their first neighbor nodes(540 nodes) were plotted in (A) while restored genes from down-regulation by ICH and their first neighbor nodes(815 nodes) were plotted in (B). Yellow circles represent core nodes with over 10 interaction edges among genes.

IV. 고찰 및 결론

생활 수준이 향상됨에 따라 건강 및 질병에 대한 관심이 높아졌으며, 환자의 경우 질병 관리자로부터 질병에 관한 정확한 정보가 전달되지 않거나 이에 대한 교육이 제대로 이루어지지 않았을 경우 불안, 공포, 우울과 같은 감정적 문제 등이 야기될 수 있다¹⁵. 고령자에서뿐만 아니라, 현대 도시 생활자들의 생활이 안정되기 시작하는 40대 중반부터 찾아오기 쉬운 성인병들 중 특히 뇌혈관 질환의 경우 급성기에서의 임상 증상뿐만 아니라 재활 과정에서의 긴 투병 생활을 거치게 되는 질병의 특징으로 인해 다른 질환군에 비해 인생의 후반기를 위협할 수 있는 매우 중요한 질병으로 인식되고 있으므로¹⁶ 이에 관한 예방 및 치료에 대한 지속적인 관심이 필요하다.

순환기계 질환에 관여하는 인자 중 하나인 혈소판은 특히 뇌혈관 질환과 밀접한 연관을 가지고 있으면서 혈액 내를 순환하고 있는데, 정상 상태에서는 혈관 내피에 부착하거나 혈소판끼리 응집하지는 않지만, 여러 자극들이 가해지거나 어떠한 이유로 인해 혈관 내피가 파괴되어 collagen이 노출될 경우 혈소판 응집이 발생하게 되고 결과적으로는 혈소판 과립 내에 있는 여러 물질들이 분비되어 이들이 적혈구 및 백혈구로 이루어진 혈전의 형성을 촉진시키게 된다¹⁷.

이러한 혈전과 유사한 의미를 가지는 한의학에서의 질병 원인에 해당하는 瘀血에 사용할 수 있는 한약재들 중 紅花는 그 대표 약재 중 하나라 할

수 있는데, “... 血海를 助하여 ... 留血을 破하고 活血한다. ... 行血藥이므로 血暈을 解除하고, 留滯가 行하면 곧 中止해야 한다.”라는 기록 등에서 확인할 수 있으며⁸, 이외의 서적들에서도 이와 유사한 기록들을 보이고 있으므로 본 연구에서 이의 추출물을 재료로 사용하게 되었다.

紅花에 관한 한의계에서의 연구로는 약침의 형태로 견비통 또는 경향통에 효과가 있다는 보고가 있으며^{18,19}, CCl₄로 손상된 흰쥐의 간 손상에 대한 보호 효과가 있다는 연구 결과²⁰ 등이 있으나, 최근의 紅花와 관련된 연구들을 보면 한의계에서의 연구보다는 의류 또는 미용 분야에서 이루어지는 연구들이 더욱 활발한 것으로 보이며, 모발의 천연 염색 또는 식물류 염색에 관한 연구들이 최근의 紅花 연구의 주류를 이루고 있는 추세이므로^{21,22} 향후 한의계에서의 연구 노력이 더욱 필요한 것으로 보인다.

최근 현대 생물학을 이용한 한의학계에서의 연구 노력이 활발해지고 있지만, 유전자 수준에서의 연구 결과는 아직 미흡한 것으로 생각된다. 따라서 본 연구에서는 뇌손상이 유발된 흰쥐에서의 유전자 변화와 이에 대한 紅花 추출물인 CFe 투여의 영향을 DNA 칩을 이용한 연구 기법을 활용하여 측정하여 보았다.

저자들은 본 연구에 앞서 보고를 통해 紅花의 흰쥐의 뇌손상 회복에 관여하는 단백질 상호작용 네트워크 분석을 통해 Ngf, Dlgap1, Ctnnb1, Slc6a9 및 Strn3 단백질이 중심체로 작용할 가능성이 있다는 결과를 발표한 바 있으며, 연구 결과가 단백질 분석 위주라는 제한점이 있으므로 향후 진보된 연구 방법들을 더 적용하여야 함을 밝힌바 있다¹⁰. 따라서 본 연구는 이러한 선행 연구의 후속 연구 차원에서 수행되었으며 뇌조직 손상과 회복에 관여하는 중심 역할을 하는 유전자의 직접 분석을 시도하였다.

뇌출혈이 유발된 뇌조직과 비교해서 CFe 투여에 의해 많은 유전자들의 발현이 변화 하고 있음

을 확인 할 수 있었다. 이번 연구에서는 CFe 투여에 의해 발현이 정상으로 회복되는 유전자들을 분석대상으로 하였지만, 이외에도 CFe 투여에 의해 발현이 증가하거나 감소되는 유전자들도 상당수 발견되었으며 향후 이런 유전자들의 영향도 측정되어야 할 것이다. CFe 투여에 의해 발현이 정상으로 돌아온 유전자들의 기능을 살펴보면, 대부분의 기능이 뇌출혈을 유발에 의해 변화된 기능임을 확인할 수 있었다. 이는 CFe 처리에 의해 발현이 정상으로 복귀되는 유전자들이 뇌출혈 유발에 의한 기능을 일부 회복시킬 수 있다는 것을 의미한다. 개별 pathway를 살펴보면 olfactory transduction, colorectal cancer, 및 Thyroid cancer pathway 등이 유의적인 pathway로 선별 되었는데, 이들 pathway의 뇌출혈 연관성은 아직 보고되어 있지 않기 때문에 향후 개별 pathway의 뇌출혈 연관성 및 CFe 투여와의 관련성 또한 구명해야 할 것이다. 한편 CFe의 정확한 분자적 기작을 설명하기 위해서는 개별 유전자의 선별 또한 매우 중요하며, 이를 위해 단백질 차원에서 상호작용이 가장 많은 유전자를 선별하였다. 특히 CALM1, VAV1 등은 50 여종이 넘는 다른 단백질과 상호작용을 한다는 측면에서 향후 개별 유전자의 연구가 필요할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 2008년도 부산대학교 교내학술연구비(신임교수연구정착금)에 의한 연구임

참고문헌

1. 통계청. 2008년 사망원인통계 결과. http://www.kostat.go.kr/nso_main/nsoMainAction.do?method=search&catgrp=nso2009&catid=k09_0000&catid2=k09i_0000&forward=search.

2. 尹吉榮. 東醫學의 客觀化와 東西醫學 病名 統一을 위한 方法. 東洋醫學. 1976;2(4):7-15.
3. 康舜洙. 韓醫學에서의 瘀血에 대한 概念. 大韓韓醫學會誌. 1984;5(1):138-40.
4. 金完熙. 臟腑辨證論治. 서울: 成輔社; 1988, p. 59-61.
5. 崔昇勳. 韓方病理學. 서울: 一中社; 1997, p. 70-4.
6. 辛民教 編著. 臨床本草學. 서울: 南山堂; 1997, p. 534-5.
7. 全國韓醫科大學 本草學 教授 共編著. 本草學. 서울: 永林社; 1994, p. 424-5.
8. 申佶求. 申氏本草學 各論. 서울: 壽文社.; 1988, p. 554-6.
9. 김동환, 이경섭, 송병기. 도인 및 홍화 약침의 진통, 항혈전 효능에 관한 연구. 대한한방부인과학회지. 2000;13(2):60-73.
10. 임세현, 손영수, 백진웅, 조수인, 김영균. 紅花 추출물 투여에 의한 뇌출혈 흰쥐 뇌조직의 유전자 발현 조절. 대한예방의학회지. 2008;12(3):81-90.
11. Beheshti B, Braude I, Marrano P, Thorner P, Zielenska M and Squire JA. Chromosomal localization of DNA amplifications in neuroblastoma tumors using cDNA microarray comparative genomic hybridization. Neoplasia. 2003;5(1):53-62.
12. Tarca AL, Draghici S, Khatri P, Hassan SS, Mittal P, Kim JS, et al. A novel signaling pathway impact analysis. Bioinformatics. 2009; 25:75-82.
13. Kanehisa M, Goto S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. Nucleic Acids Res. 2000;28:27-30.
14. Shannon P, Markiel A, Ozier O, Baliga NS, Wang JT, Ramage D, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. Genome Res. 2003;13:2498-504.
15. Thora BH, Martine V, Eline L and Marieke S. Educational needs of patients with a stroke and their caregivers: A systematic review of the literature. Article in Press. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pec.2010.07.046>.
16. Ranga K and Krishnan R. Biological risk factors in late life depression. Biological Psychiatry. 2002;52(3):185-92.
17. Andrew IS and Robert IH. The role of platelets in thrombotic and vascular disease. Progress in Cardiovascular Diseases. 1979;22(1):31-52.
18. 정동화, 안호진, 황규신, 윤기봉, 김태우, 문장혁 등. 홍화 약침의 견비통에 대한 임상적 연구. 대한침구학회지. 2002;19(6):184-92.
19. 김호은, 강영화, 조명제, 김태우, 김은영, 나창수. 연부조직 손상으로 인한 경향통 환자의 홍화 약침 치료에 관한 임상적 고찰. 대한침구학회지. 2002;19(4):112-23.
20. 기성식, 길기정, 이영중. 홍화와 익모초가 CCl₄로 손상된 흰쥐의 간에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2001;16(2):79-89.
21. 신운숙, 손경희, 류동일. 홍화 황색소를 이용한 모염색의 최적화. 한국의류학회지. 2009;33(12):1971-8.
22. 차원미, 김한식. 홍화를 이용한 모발의 천연염색. 대한미용과학회지. 2008;4(2):177-82.