

한약의 다양한 항암기전

박영철¹, 박용기², 이선동^{3*}

1 : 대구가톨릭대학교 GLP 센터, 2 : 동국대학교 한의과대학 본초학교실,
3 : 상지대학교 한의과대학 예방의학교실

The various mechanisms of Korean traditional medicines for anti-cancer

Yeong-Chul Park¹, Yong-Ki Park² and Sundong Lee³

1 : GLP Center, Catholic University of Daegu
2 : Dept. of Herbology, College of Oriental Medicine, Dongguk University
3 : Dept. of Preventive medicine, School of Oriental Medicine, Sangji University

ABSTRACT

Objectives : Recently there have been encouraging results, from a western perspective, in the cancer research field regarding the anticancer effects of herbal medicine. This paper was aimed to review herbal medicine playing its anticancer role in terms of apoptosis, inflammation control, differentiation and telomerase.

Methods : New studies for tang, medicinal herb itself or effective ingredients of medicinal herb showing anti-cancer effectiveness were reviewed and summarized in terms of pharmacological action.

Results : Ethanol extracts of *Spatholobus suberectus* greatly inhibited cancer cell growth inducing cell apoptosis and cytotoxic effects. *Scutellaria baicalensis* may be responsible for its anticancer activity showing inhibition of PGE₂ synthesis via suppression of COX-2 expression. Saikosaponins isolated from *Bupleurum* induced the differentiation of C6 glioma cells, cancer cells, into astrocytes, normal cells. Acetone extract of *Bupleurum scorzonerifolium* inhibited proliferation of human lung cancer cells via inducing apoptosis and suppressing telomerase activity.

Conclusions : Herbal medicine inhibited cancer cell growth inducing cell apoptosis and cytotoxic effects. Inflammation persisting for a decade eventually elevates the risk of cancer sufficiently that it is discernible in case control epidemiological studies. Differentiation therapy is defined as a therapy to treat cancers by inducing differentiation of the stem cells. Telomerase expression is a hallmark of cancer. Nearly the complete spectrum of human tumors has been shown to be telomerase positive.

Key words : Korean traditional medicines ; anti-cancer; apoptosis; inflammation; differentiation therapy

I. 서론

암은 기원전 11 세기에 그림을 통해 처음으로 묘사되었으며 기원전 2 세기경에 암과 원인에 대해 기술되었다¹⁾. 한약 및 중의약에서 암에 대한 묘사는 상세히 서술되었지만 암이라는 단어는 없다. 이러한 이유는 암이 단일질환이라고 보는 것보다 여러 다른 종류의 질환으로 규정하는데 기인한다. 이는 오늘날 한방에서 항암치료는 치료율이 극히 낮고 대단히 발전이 느린 분야로 만든 원인이 된다. 서양에서 한약 또는 생약

에 의한 항암치료는 현재 주류의학의 일부로 인정되지 않고 있으며 여러 의료 및 건강 관련 이론, 기술, 제품 등을 통해 응용되는 보완대체의학(complementary and alternative medicine)으로 응용되고 있다. 그러나 이러한 보완대체의학은 암을 포함한 모든 환자의 90% 정도에 응용되고 있다³⁾. 또한 2005년 기준으로 미국과 유럽에서는 다양한 질환을 가진 10억명의 환자에게 한약과 중의약이 응용되었으며 특히 암환자에게 응용이 증가되고 있는 상황이다⁴⁾. 한약이 암환자의 직접적인 주요 치료제뿐 아니라 다른 항암제의 효능을 상승시키

*교신저자 : 이선동, 상지대학교 한의과대학 예방의학교실

· Tel : +82-33-730-0665 · E-mail : sdlee@sangji.ac.kr

· 접수 : 2012년 4월 16일 · 수정 : 2012년 4월 24일 · 채택 : 2012년 4월 26일

기는 보조제, 그리고 항암제 및 항암제료에 의한 부작용을 감소시키는 약물로 이용되기도 한다. 그러나 실제적으로 한약의 항암에 대한 효능은 한약재 또는 탕제로서보다 Table 1에서처럼 추출된 단일성분으로 확인되고 있다. 서양의학에서 임상

적으로 이용되는 약물의 목록을 담고 있는 Comprehensive Medicinal Chemistry database에는 669 종의 항암제가 존재하는데 이중 26종이 한약재로부터 분리된 성분이다.

Table 1. Western-medicine-validated anti-tumor agents present in the Traditional chinese medicine database.

Ingradients isolated from herbal medicines	Chinese traditional medicines	Herbal name
Acronine	Bao Rui Shan You Gan (Bauer Acronychia)	Acronychia baueri
Amygdalin(D)	Ci Wu Jia (Manyprickle Acanto-Panax Root)	Acanthopanax senticosus
Apigenin	Juan Bai (Selaginella)	Selaginella tamariscina
Bergenin	Yan Bai Cai (Bergenia)	Bergenia purpurascens
Caffeic acid phenethyl ester	Mei Gui Hua (Rose)	Rosa rugosa
Camptothecin	Xi Shu (Common Camptotheca)	Camptotheca acuminata
Colchicoside	Qiu Shui Xian (Colchicum)	Colchicum autumnale
Coumarin	Huang Hua Hao (Sweet Wormwood)	Artemisia annua
Demecolcine	Qiu Shui Xian (Colchicum)	Colchicum autumnale
Ellipticine	Gu Cheng Mei Gui Shu	Ochrosia elliptica
Genipin	Du Zhong (Eucommia Bark)	Eucommia ulmoides
Harringtonine	San Jian Shan (Fortune Plumyew Twig and Leaf)	Cephalotaxus fortunei
Irisquinone A	Ma Lin (Chinese Iris)	Iris pallasii var. chinensis
Lapachol	Huang Jin (Linden Hibiscus)	Hibiscus tiliaceus
Limonene	Hui Xiang (Fennel Fruit)	Foeniculum vulgare
Masoprocol	Yu Chuang Mu (Ironwood)	Guajacum officinale
Paclitaxel	Hai Nan Cu Fei (Hainan Plumyew)	Cephalotaxus hainanensis
Peucedanin	Qian Hu (Whiteflower Honfennel Root)	Angelica decursiva
Piperidine	Bi ba (Long Pepper)	Piper longum
Plumbagin	Bai Hua Dan (Whiteflower Leadword Root)	Plumbago zeylancia
Podophyllotoxin	Gui Jiu (Common Dysosma Rhizome)	Dysosma versipellis
Tenulin	Ku Wei Dui Xin Ju (Bitter Yellowweed)	Helenium amarum
Thalicarpine	Cu Guo Tang Song Cao	Thalictrum dasycarpum
Thymidine	Zhe Bei Mu (Thunberg Fritillary Bulb)	Fritillaria verticillata var. thunergii
Tylocresin-(+)	Mi Hua Wa Er Teng	Tylophora crebriflora
Uracil	Wu Tou (Aconite)	Aconitum carmichaeli

(Adapted from Xue-Juan Li)

그러나 한약이 비록 서양에서는 보완대체의학으로 이용되고 있지만 한약의 암에 대한 효능이 최신 의학 정보를 바탕으로 세포수준 및 동물수준에서 실험을 통해 확인되고 있다. Table 2는 세포 및 동물 수준에서의 한약재의 항암효능을 확인하기 위해 수행된 연구사례이다⁵⁾. 이러한 실험적 수준에서 한약의 항암 효능은 주로 암세포의 세포자멸(apoptosis), 면역체계의 조절, 세포분화에 대한 영향, 신생혈관생성의 억제,

항암다제 내성(multidrug resistance, MDR) 텔로머라제(telomerase) 효소활성의 저해 등의 측면에서 확인되고 있다²⁾. 이에 대한 이해는 한약의 항암기전을 이해하는데 중요하면 향후 한약재의 복합처방 및 탕제를 응용하여 항암치료에 유용하게 이용될 수 있다. 따라서 본 장에서는 세포자멸(apoptosis), 염증조절, 분화(differentiation), telomerase 활성화에 대한 영향을 통해 한약재의 항암기전이 설명되었다.

Table 2. Anticancer effects of herbal medicine

Type of cancer	Herb	Mechanisms
HNSCC	<i>Scutellaria baicalensis</i>	Inhibition of cell growth in vitro and in vivo, inhibition of PGE2 synthesis via suppression of COX-2 expression
	<i>Asiaticoside</i>	Induction of apoptosis and enhancement of the anti-tumor activity of vincristine
	<i>Mylabris phalerlata, Scutellaria barbata</i>	Induction of apoptosis
Leukemia	<i>Red orpiment</i>	Induction of apoptosis
	<i>Echinacea purpurea</i>	Enhancement of nonspecific immune or cellular immune systems(or of both)
	<i>Artesunate(ART)</i> <i>Bufalin</i>	ART significantly increased daunorubicin accumulation in CEM/E1000 cells, but not in CEM/VLB(100) or CCRF-CEM parental cells. Bufalin caused a small, but significant increase in daunorubicin accumulation in CEM/VLB(100) and CEM/E1000 cells
	Arsenic trioxide	Induction of apoptosis
	PC-SPES	Inhibition of growth, induction of differentiation and apoptosis
Colorectal carcinoma	<i>Magnolol</i>	Induction of apoptosis
	<i>Coptidis rhizome and Berberine</i>	Reduction of IL-6 mRNA levels and protein level in tumors and sera
Gastric cancer	<i>Isoliquiritigenin</i>	Induction of apoptosis
	<i>Astagali(AR)</i>	Cytostatic
	<i>Anemarrhena asphodeloides</i>	Induction of apoptosis
Hepatic cancer	<i>Magnolol</i>	Induction of apoptosis
	<i>Isoverbascoside</i>	Induction of differentiation

Lung cancer	<i>Bupleuri radix</i>	Inhibition of telomerase activity and activation of apoptosis
	<i>Triptolide</i>	Induction of apoptosis in combination with Apo2L/TRAIL
Breast cancer	<i>Acutiaporberine</i>	Induction of apoptosis
	<i>Anticancer-number-one</i>	Increase of NK cell activity and inhibition of tumor metastasis
	<i>Rosemary</i>	Reversing MDR
	Tea and tea polyphenols	Suppression of fatty acid synthase (a key enzyme in lipogenesis)
	<i>Asiaticoside</i>	Enhancement of the anti-tumor activity of vincristine
Ovarian cancer	<i>Scutellaria barbatae</i>	Induction of apoptosis
Prostate cancer	PC-SPES	Activation of the JNK/c-Jun/AP-1 signal pathway re-sulting in growth arrest and apoptosis of prostate cancer cells
	<i>Equiguard</i>	Down-regulation of expression of androgen receptor and prostate-specific antigen, induction of apoptosis
	<i>Baicalain</i> <i>Epicatechin, Berberine, Acteoside</i>	Down-regulation of MMP expression, inhibition of angiogenesis
	<i>Saikosaponin a,b</i>	Induction of differentiation
Glioma	Dang-gui-bu-xai-tang	Increase of the population of CTLs and NK cells, and down-regulation of activated T helper cells(CD4+/CD25+) in spleen and TDLN

Note: HNSCC: head and neck squamous cell carcinoma, PGE₂: prostaglandin E₂, COX-2: cyclooxygenase 2, EC: endotheliocytes, NK: natural killer, MDR: multidrug resistance, MMP: matrix metalloproteinase, CTLs: cytotoxic T lymphocytes, TDLN: tumor-draining lymph nodes, Anticancer-number-one 구성한약재: *Panax ginseng, Poria cocos, Atractylodes macrocephala, Anglica sinensis, A. membranaceus, Curcuma zedoaria, Scutellaria baicalensis, Phellodendron chinense, Coptis chinensis, Glycyrrhiza uralensis, Crataegus pinnatifida, Hordeum vulgare Salvia medicinalis*, PC-SPES 구성한약재: *Reishi mushroom, Baikal skullcap, Rabdosis, Dyer's woad, Chrysanthemum, Saw palmetto, Panax ginseng, and Licorice*, Dang-gui-bu-xai-tang: *Radix Angelicae sinensis and Radix Astragali membranaceus*, (Adapted from Ruan).

본론 및 고찰

1. 한약의 세포자멸(apoptosis) 유도를 통한 항암기전

세포자멸은 세포의 의도적으로 스스로 죽는 세포자살을 의미하는데 이는 세포손상에 의한 세포괴사(necrosis)와는 다르다⁶⁾. 즉 세포의 죽음은 의도적인 죽음인 세포자멸과 자연적인 죽음인 세포괴사가 있다. 암세포의 가장 중요한 특징은 세포분열의 조절능력 상실에 기인한 무한한 증식이다. 이러한 측면에서 정상세포의 암세포로의 전환되는 과정에서 세포자멸은 암세포의 증식을 막는 중요한 생체 방어기전이라고 할 수 있다. 돌연변이는 DNA 손상을 통해 세포분열시 수선되지 않고 딸세포에 전달되는 과정이며 추가적인 돌연변이는 최종적으로 정상세포의 암세포로의 전환을 유도한다. Fig. 1에서처럼 방사선 및 화학물질에 의한 DNA 손상의 유전적 스트레스가 유발되면 대부분의 세포는 DNA-damage response(DDR, DNA-손상 반응)을 하게 되며 이러한 반응은 손상된 DNA가 자손 세포에서 돌연변이 유발을 막는 세포 방어기전이다⁷⁾. DDR은 대단히 복잡한 과정인데 화학물질에 의한 DNA 손상의 신호에 반응하여 손상된 DNA의 수선과 세포주기 억제 및 세포자멸 등의 세포의 반응(cellular response)이 있다. 따라서 DDR은 DNA 손상에 반응하여 정상세포의 돌연변이를 막거나 DNA 손상을 입은 세포의 세포자멸을 유도하는 생체 방어시스템의 일종이다. DDR에 의한 DNA 수선 및 세포주기 조절은 정상적인 작동을 통해 정상세포의 생존 조건하에서 이루어지지만 세포자멸은 스스로 죽어 원천적으로 암세포로의 전환을 막는 세포의 극단적인 방어기전이다⁸⁾. 따라서 DNA 손상에 의해 DDR의 정상적인 작동을 통한 세포자멸은 세포의 암세포로의 전환에 있어서 중요한 기전이다. 한약에 의한 세포자멸에 대한 연구는 탕제 및 한약재보다 한약재의 주요성분에 의해 많은 연구가 이루어져 왔다. 그러나 한방의 처방은 탕제에 의해 이루어진다는 측면에서 한약 성분에 의한 항암효능에 대한 연구는 실제 응용에 있어서 한계가 있다.

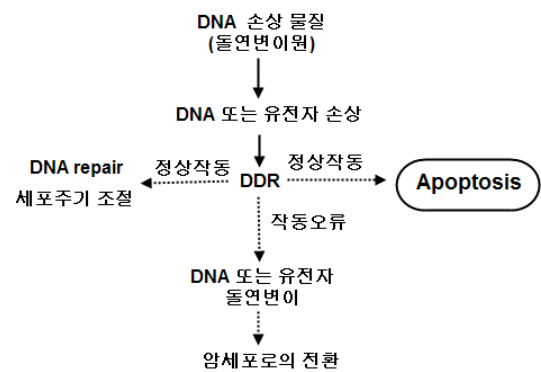


Fig. 1 The role of apoptosis in transformation of normal cell to cancer cell caused by DNA damage.

* DDR: DNA-damage response. (Adapted from Yeong-Chul Park)

1) 계혈등에 의한 세포자멸 기전

계혈등(*Spatholobus suberectus*)은 중의학의 임상에서 항암치료제로써 잘 이용되고 있다. Fig. 2의 A)는 사람의 유방암세포(MCF-7), B)는 사람의 대장암세포(HT-29)에 대해 계혈등 열수추출물에 의한 세포증식에 대한 영향을 각각 나타낸 것이다. 계혈등은 투여 24시간을 제외한 투여 48시간 및 72 시간 동안에 두 세포군의 증식이 투여농도-의존적으로 억제되었다⁹⁾.

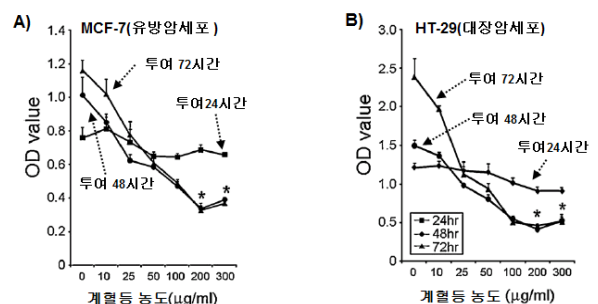


Fig. 2. Effects of *Spatholobus suberectus* on the proliferation of cancer cell, MCF-7(A) and HT-29(B). (Adapted from Wang)

일반적으로 하나의 세포가 두 개의 세포로 분열되는 과정인 세포주기(cell cycle)는 세포분열을 준비하는 시기인 간기(interphase)와 분열이 발생하는 유사분열기(mitotic phase, M)로 구분된다. Fig. 3의 A)에서처럼 간기는 DNA 복제에 필요한 단백질 합성을 하는 G1과 DNA 합성을 하는 S, 핵분열, 세포질 분열에 필요한 단백질이 합성을 유도하는 G2로 구분된다. 유사분열기는 핵분열(mitosis)과 세포질 분열(cytokinesis)로 구분된다. DNA 손상에 의한 DNA 수선(DNA repair)은 S기에 이루어진다. 만약 손상된 DNA가 수선되지 않으면 G2기를 통과하여 유사분열을 통해 딸세포에 돌연변이가 전달되어 암세포로의 전환이 촉진된다¹⁰⁾. 그러나 DNA 손상에 의한 DDR이 발생하면 수선되지 않은 DNA를 가진 세포는 G2기에서 세포자멸이 유발되어 돌연변이가 딸세포에 전달되지 못한다. 따라서 G2에서 세포주기가 정지된다는 것은 DDR에 의한 세포자멸의 가능성을 의미한다. 특히 DNA 손상에 의한 세포자멸은 G2기에서 발생함으로써 G2기의 세포가 많다는 것은 세포자멸의 가능성을 가진 세포가 많다는 것을 의미한다. Fig. 3의 B)에서 MCF-7과 HT-29의 암세포집단에서 계혈등에 의해 농도-의존적으로 G2 세포가 증가하였다. 따라서 계혈등은 세포주기에서 G2-정지(G2-arrest) 촉진을 유도하여 암세포의 세포자멸을 유도하는 것으로 추정된다⁹⁾.

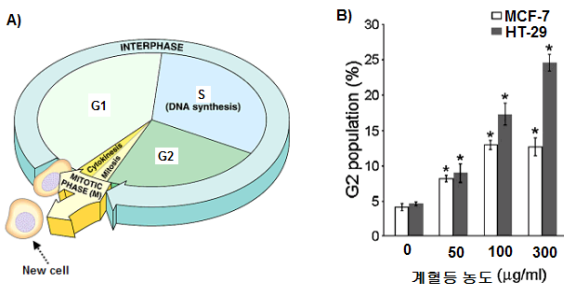


Fig. 3. Cell cycle(A) and Effects of Spatholobus suberectus on G2 phase in cell cycle. (Adapted from Wang)

DDR뿐 아니라 세포자멸은 세포내 pro-apoptotic stimuli라고 하는 독성물질, 호르몬, 성장인자, nitric oxide(NO)와 사이토카인에 의해서도 유도된다. 그러나 DDR이나 이들 외부 신호에 의해 세포자멸은 유사하게 발생한다. DDR에 의한 세포자멸은 Fig. 4와 같이 신호전달체계를 통해 이루어지는 복잡한 과정을 통해 이루어진다¹¹⁻¹³⁾. 수많은 단백질이 세포자멸을 유도하는 신호전달체계에 존재하지만 가장 중요한 단백질은 단백질분해효소(protease)의 일종인 caspase 류의 caspase-8, caspase-9, caspase-3이다. 또한 세포자멸 유도는 세포막의 receptor 경유와 미토콘드리아 경유의 2가지 기전으로 이루어진다. Extrinsic pathway(세포 외부경로)의 경우에는 리셉터-리간드(Receptor-Ligand) 결합을 통해 이루어지며 intrinsic pathway(세포 내부경로)에서는 미토콘드리아를 통해 이루어진다. Extrinsic pathway는 caspase-8 단백질의 활성화, intrinsic pathway는 caspase-9를 통해 이루어지지만 결국 최종적으로 caspase-3의 활성을 통해 이루어진다. Caspase-3은 caspase-3-activated DNase의 활성을 유도하여 세포자멸이 유도된다. DNase는 DNA를 절단하

는 단백질로 세포의 DNA를 절단함으로써 최종적으로 세포가 자멸하게 된다¹³⁾. 이러한 DNase에 의한 DNA 절단은 세포자멸이 세포괴사와의 구별할 수 있는 대표적인 세포형태학적 변화이다. DNase는 DNA의 특정 염기서열에서만 절단하기 때문에 세포자멸에 의한 DNA 단편이 전기영동 상에서 규칙적이지만 세포괴사의 경우에는 크기에서 불규칙적이다.

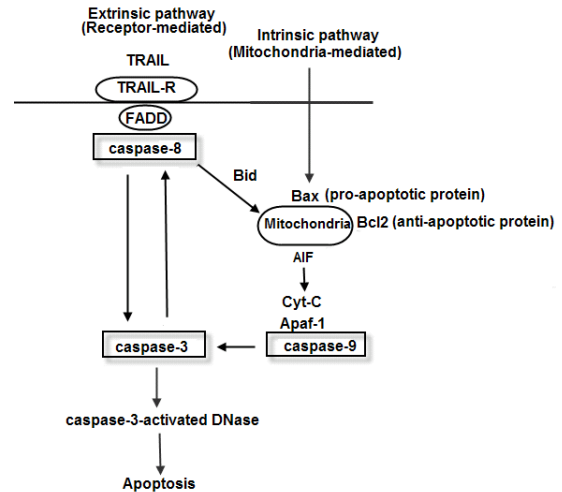


Fig. 4. Two pathway for apoptosis and caspase activation.

Bid: caspase-activated protein, AIF: Apoptosis inducing factor, Cyt C: cytochrome C, Apaf-1: Apoptotic protease activating factor 1, TRAIL: TNF-related apoptosis inducing ligand, TRAIL-R: TNF-related apoptosis inducing ligand receptor, FADD: Fas associated death domain.

이와 같이 caspase 단백질은 세포의 세포자멸을 유도하는데 있어서 중요한 역할을 한다. 계혈등을 MCF-7세포에 처리한 후, 세포자멸을 유도하는 신호전달체계의 단백질 변화를 확인되었다⁹⁾. Caspase-8과 Bcl-2의 전기영동상의 단백질 농도 변화는 없었으며 cyt C, Bax 그리고 caspase-9의 단백질 농도는 계혈등 투여에 의해 증가되었다. 이는 계혈등에 의해 세포자멸이 extrinsic pathway보다 intrinsic pathway에 의해 유도된다는 것을 의미한다. 또한 MCF-7과 HT-29 세포의 세포자멸 비율의 확인을 통해 계혈등에 의해 농도-의존적으로 두 세포군 모두에서 세포자멸의 비율이 증가되었다. 따라서 계혈등에 의한 암세포 세포자멸은 intrinsic pathway를 통해 유도되는 것으로 추정할 수 있다. 이와 같이 in vitro에서 계혈등이 MCF-7과 HT-29 암세포에 대해 세포자멸을 유도하는데 계혈등의 이러한 세포자멸의 유도가 암 모델 마우스를 이용한 in vivo에서도 확인되었다. 유방암세포인 MCF-7 세포와 HT-29 세포가 암컷 누드마우스의 유선과 좌측허리에 주입되어 암이 유발되었다⁹⁾. 계혈등은 1 g/kg/day로 28일 동안 투여되었으며 계혈등의 효능 비교를 위하여 항암제 docetaxel(5 mg/kg/w)를 계혈등과 함께 또는 단독으로 복강으로 투여되었다. MCF-7 세포가 주입된 마우스에서의 암크기가 계혈등과 유방암항암제인 docetaxel에 의해 50-60% 감소되었다. 특히 계혈등 단독으로 처리했을 경우에 암크기의 저해율이 docetaxel 단독 또는 복합으로 처방했을 때보다 높았다. 또한 HT-29 세포 주입으로 유도된 암을 가진 마우스에서 계혈등에 의한 암크기의 저해율이 docetaxel 단독 또는 복합으로 처방했을 때보다 훨씬 더 높았다. 따라서

MCF-7과 HT-29 세포의 암세포를 가진 마우스에서 계혈등은 암크기의 유의한 감소를 유도한다. 특히 in vitro와 in vivo에서 얻은 결과를 통해 계혈등의 항암기전은 intrinsic pathway 경유를 활성화하여 세포자멸을 유도하는 것으로 추정된다.

2) 복령-당귀탕에 의한 세포자멸

복령, 당귀, 황금, 감초로 구성된 복령-당귀탕(가칭)을 자궁내막-미분화 암세포인 Hormone-refractory AN3CA cell, 자궁내막-분화 암세포인 Ishikawa cell, 그리고 암세포유방암에서 분리된 MCF7/ADR 세포에 투여하여 세포자멸에 대한 영향이 확인되었다¹⁴. 암세포의 종류에 따라 다소 차이가 있지만 3종류 암세포에서 복령-당귀탕에 의해 약 10%에서 70%까지 세포사멸이 유도되었다. 특히 AN3CA cell의 증식이 복령-당귀탕의 농도-의존적으로 감소되었다. 복령-당귀탕에 의한 암세포의 증식 감소가 세포자멸로 기인한다는 것이 세포의 DNA 단편을 통해 확인되었다.

2. 한약의 염증조절을 통한 항암기전

염증(inflammation)은 일회성으로 발생하지만 10 여년의 장기간 지속적으로 발생한다면 Table 3에서처럼 염증은 다양한 암 유발에 있어서 영향을 준다¹⁵. 궤양성대장염(Ulcerative colitis)이 약 8년 이상 지속되면 대장암 위험을 증가시킨다¹⁶. 천식은 폐암의 위험도를 증가시키지만 다른 암의 발생 위험도를 낮춘다¹⁷. 그 외 골반염증성질환(pelvic inflammatory disease)과 난소표피염증질환은 난소암, 호산구성방광염(eosinophilic cystitis)은 방광암, 췌장염(pancreatitis)은 췌장암, 귀두상피염증(foreskin inflammation) 요도암, Barret's esophagus(바레트식도염)은 이형성증(dysplasia), 원인을 알 수 없는 전신적 염증 질환인 유육종증(sarcoidosis)은 폐, 피부, 간에서의 발암, 궤양성 편평 태선(ulcerative lichen planus)은 우상암(verrucous carcinoma)의 위험을 증가시킨다¹⁵.

Table 3. Various inflammation related to cancer.

Inflammatory condition	Oncogenic consequences
Ulcerative colitis > 8 years	↑ Risk of colon cancer
Asthma	↑ Risk of lung cancer ↓ Risk of several cancers, except lung cancer
Pelvic inflammatory disease	↑ ↓ Uncertain association with risk of ovarian cancer
Ovarian epithelial inflammation	↑ Risk of ovarian cancer
Eosinophilic cystitis	↑ Risk of bladder cancer
Pancreatitis	↑ Risk of pancreatic cancer
Foreskin inflammation and phimosis	Association with penile cancer
Barret's esophagous	↑ Risk of dysplasia
Sarcoidosis	↑ Risk of lung, liver, skin cancer
Ulcerative lichen planus (inflammatory mucocutaneous disorder)	↑ Risk of verrucous carcinoma

(Adapted from Fitzpatrick)

1) 염증과 다양한 암의 발생과 관련성

① 대장암

궤양성대장염은 염증에 의한 발암을 유도하는데 있어서 대표적인 질환이다. 약 3,000명의 궤양성대장염을 가진 환자에

대한 조사를 통해 대장암 발생율이 궤양성대장염이 없는 집단보다 5.7배 정도 높은 것으로 확인되었다¹⁸. 이러한 염증에 의한 암 발생율의 증가는 염증의 중증도와 염증의 기간과의 밀접한 관계가 있다. 염증의 중증도의 예를 들면 일부 대장에 국한되어 발생하는 궤양성직장염(ulcerative proctitis) 경우에는 대장암 발생율이 1.7배이지만 대장 전체에 염증이 발생하는 전대장염(pancolitis) 경우에는 대장암 발생율이 14.8배 정도로 높다. 염증의 기간에 따른 암발생 위험도에 대한 예를 들면 대장염이 30-40년 동안 지속되면 대장암의 확실하게 발생하는 절대위험도(absolute risk)가 30-40% 정도 높아진다¹⁹. 또한 궤양성대장염에 의한 대장암은 가족성선종성용종증(Familial adenomatous polyposis, 유전적인 원인으로 오는 대장과 직장의 암), 유전성비용종증대장암(Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer, 체성우성유전을 하는 유전 질환으로 대장암을 비롯하여 유전성비용종증대장암과 관련되는 다양한 장기의 암을 발생시키는 질환) 등의 대장에서 발생하는 다른 비염증성 암과의 생존율 비교에서 5년 이하의 가장 낮은 생존율의 특성을 가진 최악의 예후를 가지고 있다²⁰.

궤양성대장염이 다른 부위에 암 발생을 유도하지 않고 대장 일부에서의 국소염증을 통해 세포의 신형성(neoplasia)을 유발한다는 것은 염증에 의한 암 발생 이론이 설득이 있다고 할 수 있다. 이형성증(dysplasia, 조직이나 신체 구조 일부의 기형)을 가지고 있지 않는 궤양성대장염 환자의 50%에서 염증발생 주변의 세포에서 불안정성이 증가되는데 이는 염증이 유전자의 온전성을 저해하여 변형을 유도할 수 있다는 것을 의미한다. 또한 대장 음와(crypt)의 대장세포(colonocyte) 조직에 염증세포(inflammatory cell)의 침윤이 나타나는데 이러한 염증세포의 침윤은 궤양성대장염이 발생하는 장소에 있는 주변 세포들의 유전자적 안정성을 저해하여 암세포로의 전환을 유도할 수 있다²¹. 염증에 의한 암의 발생 가능성에 대한 증거는 기전은 항염증제인 sulfasalazine 처방에 의한 대장암 발생이 감소되는 것으로도 확인된다²¹. 일반적으로 염증 매개 효소인 COX-2가 궤양성대장염에서 발현이 높기 때문에 암세포로의 전환을 유도하는데 중요한 역할을 하는 것으로 추정되고 있다. 또한 간의 암세포에서도 COX-2 발현이 증가한다. 염증에 의한 발암 기전에 있어서 COX-2의 역할은 종양의 분화를 촉진하고 암세포의 세포자멸을 막는 것으로 설명되고 있다²²⁻²³.

② 폐 염증과 폐암

천식(asthma)은 알레르기성 염증에 의해 기관지가 반복적으로 좁아지는 만성호흡기 질환이다. 천식을 가진 환자에서 폐암의 위험도가 높다는 것이 여러 연구를 통해 확인되고 있다. 약 78,000 명의 천식환자를 통해 남녀 환자 모두에서 폐의 국소염증과 만성염증이 폐암 발생의 위험도를 증가시키는 것으로 확인되었다²⁴. 천식을 가진 남자 환자 31,000명에 대해 조사를 통해 폐암에 의한 사망 위험도가 약 3.18 배 정도로 증가되는 것으로 조사되었다²⁵. 또한 천식을 가진 환자 64,000 명에 대한 연구를 통해 폐암과 내분기계의 암을 제외한 다른 암이 발생하는 위험도가 낮은 것으로 확인되었다²⁶. 이는 천식이 존재하면 다른 암의 발생에 앞서 우선적으로 폐암이 유도되기 때문에 다른 암의 발생 위험도가 그 만큼 낮아진다는 것을 의미한다. 천식환자에서 폐암의 위험도가 증가

된다는 것은 염증이 암과 밀접한 관련이 있는 것으로 추정할 수 있다. 따라서 폐에서 국소염증이 폐암의 위험요인이 될 수 있다는 것을 환자에게 인식하게 하여 단순히 기도의 염증성 질환으로써 천식을 인식하지 않도록 하는 것이 중요하다. 일반적으로 천식 관리를 위하여 흡입성 부신피질 호르몬(corticoids 또는 corticosteroids)이 이용되는데 이는 국소적으로 면역결핍을 유발하며 폐에서 국소발암의 원인이 된다는 것을 인식할 필요도 있다.

③ 난소, 췌장에서의 염증과 암

원인이 확인되지 않은 전신적 염증 질환인 유육종증(sarcoidosis)이 간암과 폐암, 방광암, 피부암, 난소암, 우췌상암(verrucous carcinoma, 화상 반흔에서 유래된 사마귀양 암종)을 가진 환자들에서 확인되었다²⁷⁻³¹⁾. 유육종증이 신체 전부위에 걸쳐 염증이 발생하는 질환이므로 전신적인 염증이 다양한 조직 및 부위에서 다양한 암을 유발할 수 있는 것을 의미한다. 난소주기(ovarian cycle)에서의 염증도 난소암 발생과 관련이 있다. 일반적으로 여성은 일생동안 350-400회의 난소주기를 통해 배란을 한다. 배란과 동반되는 과립성 백혈구 염증(granulocytic inflammation) 난소암의 발암에 기여한다. 특히 배란의 횟수가 많으면 많을수록 난소암의 위험이 높다는 것은 배란에 의한 염증이 난소암의 원인된다는 것을 의미한다. 염증에 의한 난소암의 원인으로는 p53 유전자의 돌연변이로 설명되고 있다³²⁾. 난소주기가 많으면 백혈구 염증이 빈번히 발생하고 p53 유전자의 돌연변이가 발생할 기회가 증가하게 된다. 또한 자궁내막증과 골반 염증성 질환을 가진 환자에서 난소암의 발병 위험도가 높은 것도 염증에 의한 발암의 가능성을 의미한다. 그러나 골반 염증성 질환과 난소암의 발병 위험도가 높다는 것은 다소 논쟁의 여지 있는 연구결과도 있다. 만성췌장염이 췌장암의 발생 위험율이 높다는 것이 환자-대조군 연구를 통해 확인되었다³⁴⁾. 즉, 만성췌장염을 가진 환자의 약 10% 정도가 발암억제유전자인 p53 유전자에서 돌연변이의 대립유전자를 가진 것으로 확인되었다. 그러나 만성췌장염을 가진 환자에서 췌장암의 발병 위험성은 시간과 더불어 감소되는 연구결과도 있어 논란이 존재한다. 특히 췌장암은 초기진단의 어려움, 빠른 진행의 암화, 높은 사망율에 기인하여 췌장염증과 췌장암과의 관련성을 명확하게 규명하기에는 쉽지 않은 것이 현실이다.

④ 발암에 있어서 비스테로이드성 항염증 약물의 영향

아스피린과 비스테로이드성 항염제(Nonsteroidal Antiinflammatory Drug, NSAID)가 대장암의 발생율과 대장암에 의한 사망률을 감소시키는 것으로 조사되었다³⁵⁾. 이들 항염제에 의한 대장암 발생 억제는 염증매개물질을 합성하는 COX(cyclooxygenase) 활성의 억제에 기인한다.

2) 염증에 의한 발암기전

① 라디칼, 친전자성물질 생성 및 COX-2 활성화에 의한 발암
염증에 의한 발암은 염증이 발생한 부위에서 암이 발생하는 특성이 있다. 이는 염증 과정에서 염증세포로부터 분비되는 라디칼(radical) 및 친전자성물질이 염증부위에 존재하는 세포의 유전자 손상을 유발하기 때문이다³⁶⁾. 특히 라디칼이나

친전자성물질은 반응력이 높아 다른 곳으로 이동은 거의 없기 때문에 이들이 발생하는 장소에 존재하는 세포에 영향을 주게 된다. 유전자 손상을 가진 세포는 돌연변이를 가진 딸세포로 분열되며 딸세포는 다단계 발암화 과정에서 개시세포가 된다³⁷⁾. 염증세포의 다양한 백혈구에서 분비되는 삼출물에는 유전자 손상을 유발할 수 있는 라디칼 및 친전자성물질은 유해활성산소(reactive oxygen species, ROS), NO와 같은 유해활성질소(reactive nitrogen species), 지질과산화물을 통해 생성되는 친전자성물질인 malodialdehyde(MDA)과 4-hydroxy-2-nonenal, 그리고 eicosanoid 등이 있다³⁸⁾. 특히 Fig. 5에서처럼 eicosanoid는 COX-2에 의한 arachidonic acid의 산화를 통해 생성되는 20개 탄소수를 가진 염증매개물질의 통합적 명칭이다. Eicosanoid의 일부 유도체는 친전자성을 가져 DNA 손상을 유발할 수 있다. Eicosanoid로부터 유래하는 친전자성 유도체는 대부분 α, β unsaturated aldehyde이며 15-keto-PGF2α, 15-keto-PGF2, 5-oxo-eicosatetraenoic acid, 12-oxo-eicosatetraenoic acid, 15-oxo-eicosatetraenoic acid가 있다. 대부분 이들 물질들은 염증에 의한 COX-2 활성 증가와 비례적으로 증가하여 삼출물을 통해 면역세포로부터 분비된다.

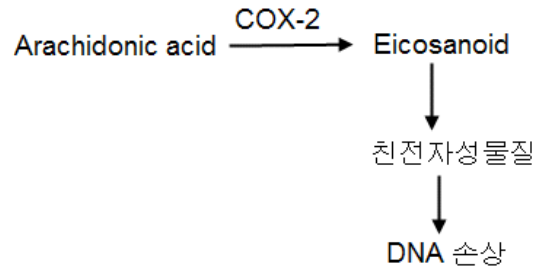


Fig. 5. The mechanism for DNA damage of cells around inflammation.

* COX-2: cyclooxygenase-2

COX-2는 병원균 및 이물질 침입 시에 방어를 위해 염증매개물질인 prostaglandin E2(PGE₂) 생성을 유도하여 염증 반응을 유발하는 중요한 효소이다. 그러나 COX-2의 발현이 반드시 염증반응을 위해 발현되지는 않는다³⁹⁾. 염증반응과는 관계없이 특정 질환에서 COX-2 유전자 발현이 증가되는 경우도 있다. 이와 같이 염증반응과 관계없이 질환의 진행 과정에서 COX-2의 발현이 증가되는 것을 질환-제한적 COX-2 발현(disease-restricted COX-2 expression)이라고 한다⁴⁰⁾. COX-2의 질환-제한적 발현이 발암화 과정에서도 발생한다. Table 4는 다양한 암이 발생한 사람들의 조직에서 주변 정상 조직보다 COX-2 발현이 증가하는 것을 나타낸 것이다¹⁵⁾. 암 부위의 COX-2 활성이 주변의 정상조직에서보다 수배에서 수십배 증가되었다. 이와 같이 다양한 종양조직이나 종양전구조직에서 COX-2 발현이 증가되는 것이 확인되고 있다. 이러한 COX-2 발현은 염증반응과는 무관하게 발생하여 암을 유도할 수 있다는 것을 의미한다.

Table 4. Disease-restricted expression of COX-2 in oncology.

Organ system	Observation	Incidence
Colon carcinoma	COX-2 mRNA at site of pathology > non-involved site	5 / 5 subjects
Colon adenocarcinoma	COX-2 protein at site of pathology > non-involved site	5 / 7 subjects
Breast tumor	COX-2 protein at site of pathology > non-involved site	11 / 20 subjects
Lung tumor	COX-2 protein at site of pathology > non-involved site	18 / 20 subjects
Gastric tumor	COX-2 protein at site of pathology > non-involved site	73 / 104 subjects
Head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC)	Mean COX-2 mRNA in HNSCC 150-fold > normal volunteers	
Pancreatic cancer	Mean COX-2 mRNA in pancreatic cancer 60-fold > adjacent non-involved tissue, COX-2 protein at site of pathology > non-involved site	9 / 10
Colon carcinoma	COX-2 levels > in tumors with larger sizes and deeper invasion	
Cervical cancer		

(Adapted from Fitzpatrick).

Arachidonic acid의 산화를 촉진하여 염증매개물질을 합성하는 COX-2에 의한 발암은 2가지 측면에서 설명된다. 먼저 COX-2 활성 증가에 의한 발암이 다양한 라디칼성 물질과 친전자성물질의 생성과 밀접한 관계가 있다. COX-2의 활성이 증가되면 유해활성산소 역시 증가된다. 유해활성산소는 지질과 반응을 통한 지질과산화물을 유발하여 친전자성물질인 malondialdehyde(MDA)과 4-hydroxy-2-nonenal 생성할 수 있으며 DNA 손상을 유발할 수 있다⁴¹⁾. 발암의 다단계 이론에서 최소한 4개의 유전자에서 돌연변이가 유발되어야 악성 표현형을 나타내는 암세포의 특성을 갖는다. 비록 COX-2에 의해 생성되는 라디칼 및 친전자성물질이 정상세포에서의 개시세포로의 전환을 유도할 정도의 많은 양의 독성물질은 생성하지 않을 수 있다. 그러나 다른 요인에 의해 돌연변이가 유도된 개시세포에 대한 추가적인 돌연변이를 유발할 수 있다. 왜냐하면 개시세포는 정상세포보다 돌연변이에 더욱 민감하게 반응하기 때문이다. 이와 같이 COX-2에 의해 생성되는 친전자성물질은 정상세포의 돌연변이와 개시세포의 추가적인 돌연변이를 통해 발암을 유도할 수 있다.

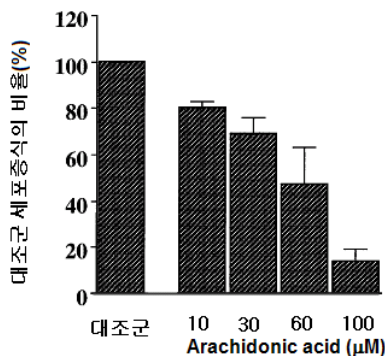


Fig. 6. The effect of arachidonic acid on HL-60 apoptosis.

* HL-60: Human promyelocytic leukemia cells. (Adapted from Surette).

COX-2 활성에 의한 발암에 대한 두 번째 기전으로는 COX-2 활성에 의한 세포자멸 능력의 감소로 설명된다⁴²⁾. 이는 세포내 존재하는 arachidonic acid가 세포의 세포자멸을 촉진하는 기능에 기인한다. Fig. 6은 arachidonic acid의 농도에 따라 HL-60(Human promyelocytic leukemia cells, 사람의 전 골수성 백혈병 암세포의 증식율이 농도-의존적으로 감소되는 것을 나타낸 것이다. Arachidonic acid가 생체 내 암세포의 세포자멸을 유도하는 것에 대한 확인은 아직 안 되었지만 세포수준에서 arachidonic acid가 암세포의 세포자멸을 유도하는 것으로 추정할 수 있다. 이와 같이 COX-2가

세포자멸을 유도하는 arachidonic acid의 산화를 유도하여 암세포의 세포자멸을 저해하는 기전을 통해 COX-2에 의한 발암기전으로 설명된다. 즉, COX-2 활성 증가에 의해 arachidonic acid 농도는 감소하고 결과적으로 돌연변이를 가진 세포의 세포자멸은 감소하게 되어 암세포로의 전환 및 증식이 증가하게 된다.

② p53 유전자와 단백질의 활성화에 대한 염증의 영향

p53 유전자(또는 TP 53)에서 발현되는 p53 단백질은 세포 주기 진행중지, 손상된 DNA 수선, 아포토시스 유도, 신생혈관생성(angiogenesis) 억제 그리고 세포의 비가역적 복제 중지 현상인 복제세네센스(replicative senescence) 촉진을 통해 정상세포의 암세포로의 전환을 억제한다⁴³⁻⁴⁶⁾. 이러한 p53 단백질의 중요한 기능 때문에 p53 유전자의 돌연변이는 다양한 종류의 암을 유발하는 직접적인 원인으로 설명되고 있다. 일반적으로 모든 암 종류의 40-60%에서 p53 유전자에 돌연변이가 확인되었다⁴³⁾. 따라서 p53은 정상세포에서 암세포로의 전환에 있어서 가장 중요한 영향을 주는 단백질이다. 염증에 의해 발생하는 라디칼 또는 친전자성물질이 p53 유전자의 손상을 유도하는 것으로 추정되고 있어 염증에 의한 발암이 p53 유전자 돌연변이로 일부 설명되고 있다⁴⁶⁾.

3) 한약의 항염증 효능을 통한 항암 기전

염증에 의한 발암에 있어서 가장 중요한 요인은 만성적 염증반응을 통해 면역세포로부터 분비되는 라디칼 및 친전자성 물질에 의한 주변 세포들의 돌연변이이다. 특히 라디칼 및 친전자성물질의 생성에 있어서 가장 큰 역할을 하는 효소는 COX-2이다. COX-2 활성 증가에 의해 돌연변이가 증가될 뿐 아니라 돌연변이를 가진 개시세포의 세포자멸도 저해된다. 따라서 염증반응에 의한 발암에 대한 한약재의 항암효능은 COX-2에 대한 영향으로 설명할 수 있다. 한약의 항염증 효능을 통한 항암 기전은 황금(*Scutellaria baicalensis*)추출물과 황금의 주요 유효성분인 baicalein을 2종의 사람편평상피암종(human squamous cell carcinoma cell line, HNSCC)인 KB와 SCC-25 암세포주에 투여를 통해 이해할 수 있다⁴⁷⁾. 또한 황금추출물과 baicalein이 항염증 효능을 통한 항암 효능 검증이기 때문에 비스테로이드계의 항염증제인 celecoxib와 indomethacin을 양성대조군으로 선정하여 비교되었다. Fig. 7은 2종류 암세포주인 KB와 SCC-25의 세포주기에 대한 황금추출물과 baicalein의 영향을 나타낸 것이다. 황금추출물이 G0와 G1기 세포주기를 가진 세포수의 증가를 유도하는 반면에 DNA 합성이 이루어지는 S기를 가진 세포수의 감

소를 유도하였다. 세포분열이 DNA 합성 후에 이루어지기 때문에 황금추출물에 의한 S기를 가진 세포의 감소는 G0와 G1기에서 세포주기 정지(arrest)되어 DNA 합성이 저해되었다는 것을 의미한다. 그러나 baicalein은 G0과 G1기를 가진 세포보다 DNA 합성이 이루어지고 난 후인 G2기의 세포수 증가를 유도하였다. 이는 DNA 합성을 마친 후 S기를 가진 세포가 유사분열(mitosis, M)을 위해 준비 중인 G2기에서 분열중지를 의미한다. 따라서 황금추출물은 암세포의 분열을 G0-G1 시기, baicalein은 G2에서 중지를 유도하여 암세포의 분열을 억제하는 것으로 이해된다. 이와 같이 황금추출물 및 baicalein이 암세포의 분열을 억제하는데 있어서 각각 다른 세포주기에서 정지를 유도하는 차이는 있지만 세포주기의 진행을 막는 것은 결국 암세포의 분열을 저지하는 항암효능으로 이해할 수 있다. 양성대조물질인 celecoxib은 2종류 암세포주의 G0-G1기에서 세포주기 정지를 높게 유도하였으며 indomethacin의 경우에는 대조군과 유사한 세포주기가 확인되었다. 이와 같이 황금추출물과 baicalein은 세포주기의 특정시기를 정지시키는데 이는 결국 세포분열 또는 세포증식의 억제를 유도하여야 항암 효능으로 설명될 수 있다. 실제 연구에서도 SCC-25와 KB 암세포 증식율이 황금추출물과 baicalein에 의해 농도-의존적 억제되었다⁴⁷⁾.

염증반응에 의한 발암 촉진은 COX-2의 활성화와 밀접한 관계가 있는데 황금추출물과 baicalein에 의한 특정 주기에서의 분열중지와 증식억제도 COX-2 활성화와 밀접한 연관이 있다. Fig. 7은 황금추출물의 arachidonic acid에서 PGE₂ 생성과 COX-2 발현에 대한 영향을 나타낸 것이다. Fig. 7의 A)에서처럼 황금추출물에 의해 PGE₂ 생성이 KB 및 SCC-25 암세포주에서 농도-의존적으로 감소되었다. Fig. 7 B)에서처럼 baicalein에 의해서도 PGE₂ 생성이 농도-의존적으로 감소되었다. 황금추출물에 의한 PGE₂ 생성의 감소는 arachidonic acid의 PGE₂로의 전환을 유도하는 COX-2 발현 저해에 기인한다. Fig. 7의 C)는 SCC-25 암세포주에서 황금추출물에 의한 시간별 및 투여농도별 COX-2 발현 정도를 전기영동상으로 나타낸 것이다. 시간별 COX-2 발현이 황금추출물 투여 후 약 48시간 및 72시간에 감소되었다. 또한 황금추출물을 SCC-25 암세포주에 72시간 투여한 결과, 농도-의존적으로 COX-2 발현이 저해되었다. 따라서 황금추출물은 COX-2의 발현 저해를 통해 arachidonic acid의 PGE₂로의 전환을 억제하는 것으로 이해할 수 있다. 황금추출물에 의한 COX-2의 발현 저해는 라디칼 및 친전자성물질의 생성 억제를 유도하여 염증에 의한 발암에 대한 항암효능의 주요 기전으로 설명할 수 있다.

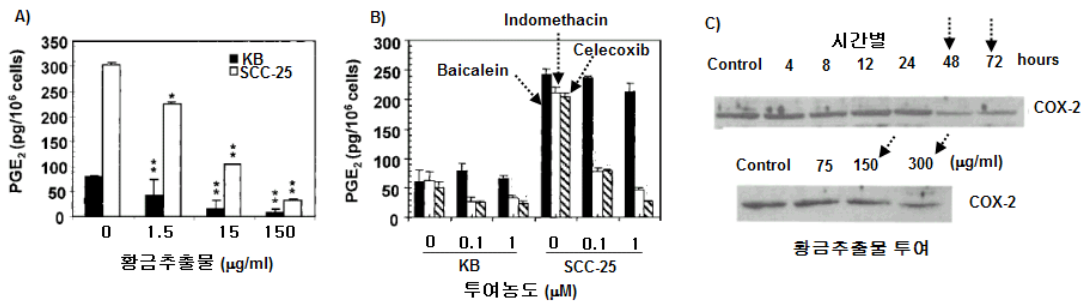


Fig. 7. Effects of *Scutellaria baicalensis*(A), baicalein(B) on PEG2 production in KB and SCC-25, and COX-2 expression(C). (Adapted from Zhang)

황금추출물에 의한 암세포 증식과 COX-2 발현 억제는 in vitro 실험을 통해 이루어졌기 때문에 in vivo에서의 확인이 무엇보다도 필요하다. 황금추출물의 항암에 대한 효능이 마우스를 통해 확인되었다. 앞서 황금추출물이 KB세포보다 SCC-25에서 더 효능이 좋은 것으로 확인되었지만 누드마우스에서 SCC-25 암세포주 투여에 의한 암 유발이 KB 암세포주보다 어려움이 있어 KB 암세포주가 이용되었다. Fig. 8은 KB 암세포주를 누드마우스의 측면목통에 투여에 의한 암을 유발하여 황금추출물의 암 크기에 대한 영향을 나타낸 것이다. 황금추출물 투여에 의해 마우스의 암크기가 대조군과 비교하여 유의하게 감소되었다. KB 암세포주 5×10⁶ 세포를 투여하여 2주 동안 암크기가 300 mm³에 도달한 후 황금추출물 75 mg/kg이 7주(주당 5회) 동안 경구로 투여되었다. 황금추출물 투여 7주 후에 평균 암크기는 대조군에서 2224 mm³, 황금추출물에서 693 mm³ 정도로 확인되었다. Fig. 8의 A)에서처럼 황금추출물에 의한 암크기에 대한 영향은 투여 후 1주부터 나타나기 시작하였다. 이는 Fig. 8의 B)에서처럼 외형적인 관찰을 통해 확인할 수 있다. 특히 황금추출물 투여 9주후에는 누드마우스의 암조직이 외형적으로 거의 확인 할 수 없고 완치에 가까운 정도로 암조직이 감소 또는 사라졌다. 또한 7주 동안

의 75 mg/kg의 황금추출물 투여에 의한 체중, 임상병리적 및 조직병리적 독성이 없었다. 이와 같이 황금추출물에 의한 항암기전은 COX-2의 활성화 저해에 의하여 arachidonic acid의 세포내 농도가 일정하게 유지되어 암세포의 세포자멸 유도에 기인하는 것으로 추정된다.

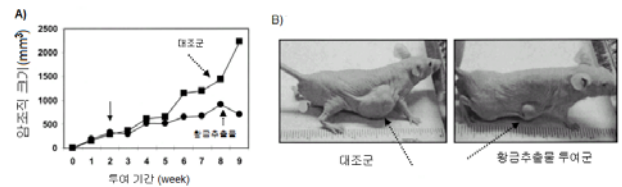


Fig. 8. Effects of *Scutellaria baicalensis* on tumor size(A) and tumor growth in nude mice(b). (Adapted from Zhang)

3. 암줄기세포의 가설과 암의 분화치료(differentiation therapy)에서의 한약재

발생학에서 세포분화(cellular differentiation)는 미분화 세포가 특정 종류의 세포로 발달되어 가는 과정을 의미한다. 세포분화는 주로 난자와 정자의 수정란을 비롯하여 세포손상

시 성체에서 유도되는 세포재생 과정에서 발생한다. 따라서 세포분화는 수정란에서 개체의 형태를 결정하는 배아줄기세포와 성체에서의 세포재생을 유도하는 성체줄기세포의 분화로 크게 2가지로 구분할 수 있다. 분화는 세포의 크기, 모양, 세포막전위, 대사활성도, 신호전달체계 등에서 세포학적 변화를 동반한다. 이러한 변화의 대부분은 유전자 발현(gene expression)의 정밀하게 조절된 변화에 기인한다. 따라서 분화가 진행되는 세포에서 유전자 발현의 이상은 분화에 큰 영향을 주게 된다. 유전자 발현에서 이상은 다른 요인도 있지만 DNA 손상에 의한 돌연변이에 의해 가장 큰 영향을 받는다. 암발생의 이론 중에서 암줄기세포 이론이 근래에 많이 주장되고 있으며 또한 이에 대한 이해를 통해 암치료 방법도 제시되고 있다. 이는 암줄기세포의 분화 특성이 배아줄기세포와 성체줄기세포의 분화 특성과 유사하다는 측면 때문이다. 따라서 암줄기세포에 대한 분화에 대한 이해는 암의 분화치료요법에 대한 이해의 핵심이 된다.

1) 암줄기세포의 이론

줄기세포(stem cell)란 특정한 세포로 분화가 진행되지 않은 채 유지되다가 필요할 경우 신경, 혈액, 연골 등 몸을 구성하는 모든 종류의 세포로 분화할 가능성을 갖고 있는 세포를 말한다. 또한 세포의 손상에 의한 세포재생이 필요하거나 생물의 생명활동에 필요한 경우에 세포를 만들어주는 것이 줄기세포이다. 줄기세포는 배아줄기세포(embryonal stem cell), 생식줄기세포(germinal stem cell) 그리고 성체줄기세포(somatic or adult stem cell)의 3종류가 있다⁴⁸⁾. 배아줄기세포는 수정란의 첫 5-6회 분열한 수정란이다. 생식줄기세포는 성체에서 난자와 정자를 생성하는 전구세포로 개체의 생식을 위해 이용된다. 성체줄기세포는 기능을 수행할 수 있도록 분화하는 세포와 정상적인 조직 재생을 할 수 있는 세포를 생성한다.

배아줄기세포와 성체줄기세포는 크게 2가지 측면에서 차이가 있다⁴⁹⁾. 첫 번째 차이는 분화전능의 유무이다. 분화전능(totipotency)이란 생체를 구성하는 다양한 기관의 세포로 분화될 수 있는 능력을 의미한다. 배아줄기세포는 다양한 조직 및 기관을 형성하는 세포로의 분화 능력을 가지고 있기 때문에 분화전능 세포(totipotent cell)이라고 한다. 배아줄기세포와 성체줄기세포의 또 다른 차이는 분열 형태이다. Fig. 9에서처럼 배아줄기세포는 비대칭적 분열을 가진 딸세포로만 분열하기 때문에 대칭적 분열(symmetric division)을 한다^{50,51)}. 배아줄기세포가 조직-특이적 분화 결정이 되면 이후의 세포 및 성체줄기세포는 비대칭적 분열(asymmetric cell)을 한다. 비대칭적 분열이란 2개의 딸세포 중 하나는 피부의 각질상피세포 또는 혈액의 적혈구와 같이 특정 세포로 분화되는 이행-증폭세포(transit-amplifying cell)가 되며 다른 딸세포는 전구세포가 되는 분열을 의미한다. 따라서 이행-증폭세포(Transit amplifying cells)란 세포분열을 통해 발생하는 두 딸세포 중 조직-특이적 세포로 분화되는 세포를 의미한다. 특히 이행-증폭세포는 최종적인 세포로 분화되기 전까지 여러 번의 세포결정(determination)을 통해 또 다른 이행-증폭세포와 전구세포로 전환된다. 따라서 수정란에서 조직-특이적 분화 결정과 더불어 지속적인 세포결정에 의한 분열을 통해 최종적으로 특정 세포로 전환된다.

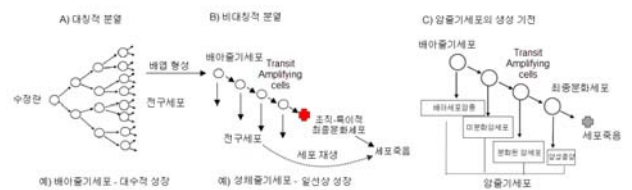


Fig. 9. Symmetric and asymmetric division(A), cancer-stem cell formation(B). (Adapted from Sell)

이와 같이 생체를 구성하는 세포는 수정란의 배아줄기세포로부터 시작하여 분화과정을 거치면서 성체줄기세포를 형성하게 된다. 성체줄기세포는 다시 세포의 재생을 위해 분화하여 성체의 구성을 유지한다. Fig. 9의 C)에서처럼 이러한 줄기세포의 비대칭적 분열의 각 단계에서 발생하는 전구세포와 같이 암줄기세포도 배아줄기세포에서 최종분화세포로 분화되는 각 단계에서 발생한다는 것이 암의 암줄기세포(cancer stem cell hypothesis) 이론이다. 이렇게 형성된 암조직내에서 암줄기세포가 차지하는 비율은 약 1% 정도이다. 그러나 암줄기세포는 정상 줄기세포의 특징인 자가재생능력을 지니고 있기 때문에 자신과 동일한 줄기세포를 만드는 동시에 암조직의 대부분을 이루는 일반 암세포로 분화되는 세포도 만들어 암화를 진행할 수 있다. 특히 이러한 특성을 가진 암세포에 암줄기세포로 명명하는 이유는 악성 종양세포들이 보이는 다양한 이질성이 정상 줄기세포의 다양한 분화적 특성과 일치하기 때문이다. 따라서 정상 줄기세포는 비대칭 분열 즉, 하나의 딸세포는 전구세포, 다른 딸세포는 이행-증폭세포와 최종분화세포로 분화되는 것처럼 암줄기세포도 각 단계에서 발생할 수 있다. 즉, 암줄기세포는 비대칭 분열을 통해 하나의 딸세포는 암전구세포, 다른 딸세포는 최종 암세포로 분화될 수 있다. 이와 같이 정상적인 줄기세포의 분열 특성과 더불어 암세포가 이러한 분열 특성을 나타내기 때문에 암줄기세포 이론(cancer stem cell hypothesis)이라고 한다.

2) 분화의 다단계 과정과 분화의 이상에 의한 암화

정상적인 세포의 분화 과정은 Table 5와 같이 다단계의 복잡한 과정이다⁵²⁾. 먼저 세포의 증식이 결정되면 대부분의 세포는 G0기에서 세포주기의 증식기에 해당하는 분화 전단계(predifferentiation)인 G1에 들어간다. 배아줄기세포인 경우에는 어떤 세포계통으로 분화할 것인가에 대한 계통-특이적 분화 유도인자(lineage-specific transacting factors)의 발현이 이루어진다. 특정 세포로의 분화가 결정되면 세포계통-특이적 분화 유도 유전자의 발현(lineage-specific differentiation genes)과 더불어 세포계통-특이적 생물학적 기능(lineage-specific biological functions)이 나타나게 된다. 이때 세포 자체가 성숙되는 분화가 이루어지게 때문에 세포분열과 관련된 성장인자의 반응(growth factor responsiveness)은 억제된다. 그러나 특정 조건에서는 분화된 세포가 성장인자에 반응하여 분열의 세포주기가 지속되는 반면에 어떤 세포는 최종 분화가 이루어져 세포주기의 정지기인 G0기로 진입으로 세포주기가 멈추게 된다. 이러한 세포의 다단계 분화 과정은 세포주기로 다시 들어갈 것인가 하는 가역성(reversible, R)과 들어가지 않는 비가역성(irreversible, IR)이 있으며 분화의 후반 단계일수록 비가역적이다. 그러나 세포에 따라 분화가 빠르고 느리게 발생하는 차이가 있기 때문에 실제적으로 이러한 분화

의 단계를 구분하기에는 쉽지 않은 측면이 있다. 그러나 분화는 세포계통-특이적 분화 유도 유전자의 발현과 성장인자의 억제 등을 동반하는 다단계 과정이며 순차적으로 이루어진다.

Table 5. Multistep Process of Cell Differentiation

Steps	Process
Step 1	Growth and proliferation of determined cells
Step 2	Induction of predifferentiation quiescence (R)
Step 3	Expression of lineage-specific transacting factors (R)
Step 4	Induction of lineage-specific differentiation genes (R)
Step 5	Expression of lineage-specific biological functions (R)
Step 6	Progressive repression of growth factor responsiveness (R)
Step 7	Decision whether or not to undergo terminal differentiation (R/IR)
Step 8	Activation of molecular mechanisms for terminal differentiation (R/IR)
Step 9	Terminal differentiation (IR)

* R: reversible, IR: irreversible (Adapted from Scott)

정상세포가 유전자의 도입 또는 유전자 손상에 의해 유전자 고유의 표현형을 상실하는 것을 형질전환(transformation)이라고 한다. 일반적으로 암세포도 DNA 손상에 의한 유전자의 돌연변이로 시작하기 때문에 암과 관련된 3 종류의 주요 유전자인 발암전유전자(proto-oncogene), 발암억제유전자(tumor suppressor gene)와 DNA 수선유전자(DNA mismatch-repair gene)에서의 손상은 결국 정상세포의 형질전환이 되었다고 볼 수 있다⁵³⁾. 형질전환된 세포(transformed cell)는 분화의 다단계를 수행하는 능력에 있어서 결핍된 특성을 가지고 있다⁵⁴⁾. 즉 형질전환이 분화의 결핍을 유도한다. 암세포 집단의 가장 중요한 특성 중의 하나가 고도분화, 중정도분화, 저분화 그리고 미분화의 다양한 분화 상태를 가진 이질성이다. 이러한 이질성은 분화 과정의 어떤 단계에서도 형질전환에 의한 영향에 기인한다. 따라서 형질전환에 의한 분화 결핍이 분화의 다단계 과정에 발생하여 대부분의 암세포 특성인 비정상적인 분열, 조직의 침윤과 전이를 결정하는 중요한 요소로 이해되고 있다. 그러나 분화 결핍에 의한 암세포의 이러한 특성과 분화의 다단계에 대한 영향이 단지 in vitro에서 확인되었기 때문에 in vivo에서 발생이 가능한가에 대한 규명은 한계가 있다. 일반적으로 분화 결핍에 의한 암세포 발생에 대한 연관성은 다음과 같이 설명되고 있다⁵²⁾.

- 대부분의 암세포가 세포주기의 특정 시기에서 성장 중지(growth arrest)를 유도할 수 있는 능력이 부족하다. 이는 전이와 침윤을 유발하는 가장 공격적인 악성세포의 특성을 나타내는데 기여를 하며 분화 능력의 부재에 기인한다.
- 세포주기의 정지기인 G0에 있는 암세포도 분화를 유도할 수 있는 능력이 없을 뿐 아니라 세포계통-특이적 유전자 발현 및 기능을 수행하는데 결함이 있다.
- 분화를 정상적으로 하지 않는 대부분의 암세포들은 비정상적인 성장 및 분열의 특성을 가지고 있다.
- 대부분의 암세포는 최종분화 단계에 도달하지 못하여 세포노화에 의해 자연적으로 죽지 않는 불멸화 상태를 유지한다.

3) 한약재의 분화치료요법

암의 진행은 분화의 다단계 또는 발암의 다단계 과정을 통해 상당히 복잡하게 전개된다. 그러나 암세포로의 전환 과정

에서 공통적인 요소는 돌연변이에 의한 유전적 변화이다. 이러한 유전적 변화를 약물로 극복할 수 있는 요법을 통해 저분화된 암세포를 정상적으로 최종 분화를 유도하는 암치료방법도 모색되고 있다. 이와 같이 다양한 방법을 통해 암세포를 최종적으로 정상적인 분화를 유도하여 정상적인 세포로 전환시키는 암치료 방법을 분화요법(differentiation therapy)이라고 한다. 즉 분화요법에서 치료의 핵심적인 요점은 암세포의 주요 특성인 무한증식 및 전이 능력의 상실을 유도하여 암세포를 정상적인 분화로 유도하는 것이다. 미성숙한 암세포의 정상적인 분화를 유도하는 물질로는 retinoic acid, sodium butyrate, dibutyl cyclic AMP, cytosine arabinoside, hexamethylene bisacetamide 그리고 phenylacetate 등이 있다⁵⁵⁻⁵⁶⁾. 특히 사람의 혈장에서 자연발생적으로 존재하는 phenylacetate은 신경교종(glioma, 신경세포를 지지하고 보호하는 물질인 신경교조직세포들로 구성된 악성 신생물이나 종양)의 정상적인 분화를 유도하여 항암효능을 지닌 것으로 알려졌다 항암을 위한 분화요법과 관련하여 한약재에 의한 경우에는 주요 성분을 중심으로 이루어지고 있으며 더 많은 연구가 필요한 분야이다.

① 시호의 saikosaponin

Saikosaponin은 triterpene saponin의 일종으로 시호의 주요 유효성분이다. 특히 saikosaponin은 항간독성, 항염증, 면역조절 분야에서 약리효능이 확인되었다. 시호에서 주요 saikosaponin으로는 saikosaponin a, b1, b2, c, d가 있다. 이들 saikosaponin을 랫드의 뇌에서 분리된 암세포인 C6 glioma cell의 in vitro 투여를 통해 분화에 대한 영향을 확인하였다⁵⁷⁾. Fig. 10은 saikosaponin의 종류별 및 투여농도별에 따라 C6 glioma cell의 세포증식에 대한 영향을 나타낸 것이다. 저농도인 0.1과 1.0 μg/ml에서는 어떤 saikosaponin도 C6 glioma cell의 증식에 대해 영향이 없었다. 그러나 saikosaponin b1, b2와 c를 제외한 saikosaponin a와 d의 고농도인 10 μg/ml에 의해 C6 glioma cell의 증식이 억제되었다. Fig. 10에 표시는 되지 않았지만 10 μg/ml 이상의 saikosaponin에서 대부분의 세포가 죽는 것을 확인되었다. Saikosaponin의 세포분화에 대한 영향을 확인하기 위해서는 암세포가 죽지 않는 농도에서의 시험이 이루어져야 한다. 따라서 C6 glioma cell의 죽음을 유도하기 시작하는 saikosaponin a와 d의 10 μg/ml 농도가 분화에 가장 큰 영향을 유도할 것으로 추정되어 선택되었다.

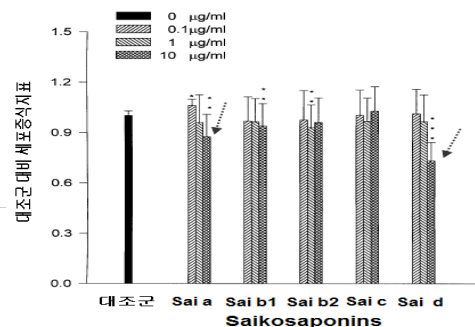


Fig. 10. The effect of Saikosaponin on the proliferation of C6 glioma cells. * →: Significant decrease in cell proliferation. (Adapted from Tsai)

증식억제를 유도한 saikosaponin a와 d의 10 μ g/ml이 Fig. 11에서처럼 세포형태의 변형도 유도하였다. 세포의 형태적 변형은 세포의 정상적인 분화 진행을 반영한다. Saikosaponin에 의한 C6 glioma cell의 형태적 변형은 세포질의 돌기가 주로 확장되며 크기가 증가되는 것으로 나타났다⁵⁷⁾. 이와 같이 saikosaponin에 의한 세포 형태학적 변화는 정상적인 분화를 반영하는 것으로 추정된다.

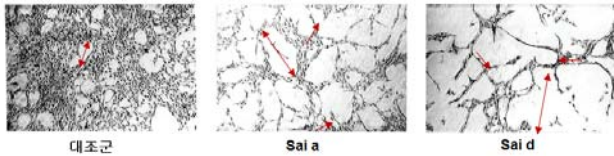


Fig. 11. The effect of Saikosaponin on the morphologic changes of C6 glioma cells.

* →: Morphologic changes. (Adapted from Tsai)

암세포에 대한 분화요법은 결국 미분화된 암세포의 분화를 정상적으로 촉진시켜 암세포를 정상세포로의 전환을 유도하는 것이다. 결과적으로 정상적인 분화의 유도를 통해 암세포의 특성인 무한한 세포증식을 억제하는 것이다. 따라서 saikosaponin에 의한 C6 glioma cell의 세포 형태학적 변화가 정상세포로의 분화를 의미하는 것인지에 대한 확인이 필요하다. Glioma cell은 glia cell(신경교세포)의 암종이며 glia cell은 희돌기교세포(oligodendrocyte)와 상상세포(astrocyte)의 2 종류가 있다. 따라서 saikosaponin a와 saikosaponin d에 의한 분화 촉진이 Glioma cell에서 확인되었기 때문에 Glioma cell의 형태학적 변화가 희돌기교세포 또는 상상세포의 정상적인 분화의 특성이라는 것이 확인되어야 한다. 일반적으로 희돌기세포는 2,3-cyclic nucleotide 3-phosphohydrolase (CNP) 효소, 그리고 상상세포는 glutamine synthetase(GS) 효소를 다량으로 함유하고 있기 때문에 이들의 구분은 효소활성을 통해 이루어진다. 본 연구에서 saikosaponin 투여 후, 이들 효소들의 활성 증가를 통해 C6 glioma cell이 정상적인 세포인 희돌기세포와 상상세포로 분화가 되었다는 것이 확인되었다⁵⁷⁾.

② 인삼에서 자란 상황버섯-ethyl acetate 추출물

상황버섯(*Phellinus linteus*)은 본초강목이나 동의보감에서 상이, 상목이, 상신으로 표현되었으며 목덜미가 바늘과 같아서 형상이 마른 상태를 치료하는 침열제로 소개되어 있다. 그러나 오늘날 상황버섯은 뽕나무 고목에 자생하지만 자연산은 거의 없어 주로 참나무를 이용해 인공재배되고 있다. 상황버섯의 암세포 분화에 대한 영향이 인삼에 접종되어 수확한 상황버섯(*Phellinus linteus* grown on *Panax ginseng*, PGP)을 통해 확인되었다⁵⁸⁾. 상황버섯의 인삼을 이용한 재배는 성장을 통해 인삼의 주요 유효성분인 다양한 ginsenoside가 상황버섯 내로의 유입으로 인삼의 효능을 추가적으로 첨가하기 위한 일종의 재배방법으로 추정된다. 마우스의 피부암세포인 B16F10 melanoma cell(흑색소 세포종)의 증식에 대한 PGP의 ethyl acetate(EtOAc), butanol(BuOH)과 열수추출물의 영향이 있는 것으로 확인되었다. B16F10 melanoma cell에 투여 48시간 후 증식을 확인한 결과, PGP-EtOAc 추출물

100 및 500 μ g/ml 투여군에서 농도-의존적으로 대조군 대비 세포증식이 감소되었다. 또한 Fig. 16의 B)에서처럼 PGP-EtOAc추출물의 투여에 의해 시간-의존적으로 B16F10 melanoma cell의 증식이 감소되었다. 따라서 PEP의 EtOAc추출물은 다른 추출물보다 B16F10 melanoma cell 증식을 더욱 억제하는 것으로 추정된다.

이와 같이 PGP-EtOAc추출물에 의한 B16F10 melanoma cell의 증식 억제를 통해 상황버섯의 항암효능을 이해할 수 있다. 그러나 이러한 증식억제가 PGP-EtOAc추출물에 의한 세포독성에 기인하는 것인지 아니면 암세포-특이적인 분화에 대한 영향에 의한 증식 억제에 기이하는 것인지에 대해서는 의문이 있다. 따라서 세포증식을 억제하지 않는 PGP-EtOAc 추출물 농도에서 분화에 대한 영향의 확인이 필요하다. Fig. 11의 A)는 B16F10 melanoma cell의 증식을 억제하지 않는 1, 10 μ g/ml 투여농도와 미약한 증식 억제를 나타내는 100 μ g/ml의 PGP-EtOAc추출물에 대한 세포형태학적 변화를 나타낸 것이다⁵⁹⁾. B16F10 melanoma cell의 세포 크기뿐 아니라 수지상(나뭇가지 모양)의 세포(dendritic-like shaped cell)가 PGP-EtOAc추출물에 의해 증가되었다. 따라서 PGP-EtOAc추출물은 저분화 또는 미분화된 B16F10 melanoma cell의 분화를 촉진시키는 것으로 이해할 수 있다. PGP-EtOAc추출물에 의한 암세포의 분화는 세포형태학적인 측면에서의 분화뿐 아니라 분자생화학적인 측면에서의 분화도 확인되었다. Fig. 12의 B)에서처럼 PGP-EtOAc추출물에 의해 tyrosinase와 microphthalmia melanocyte-associated factor의 발현이 농도-의존적으로 증가되었다. B16F10 melanoma cell의 분화는 최종적으로 melanocyte(멜라닌세포)로 최종분화된다. 분화된 melanocyte의 주요 기능은 멜라닌 합성인데 tyrosinase 효소는 멜라닌 합성을 촉진하는 효소이다. Microphthalmia melanocyte-associated factor(MITF)는 microphthalmia 유전자를 활성화시켜 melanocyte의 분화와 발달을 촉진시키는 성장인자이다. 따라서 tyrosinase와 MITF 발현 증가는 melanocyte의 분화 정도를 나타내는 분자생화학적 지표이다. 따라서 PGP-EtOAc 추출물에 의하여 B16F10 melanoma cell에서 tyrosinase와 MITF의 발현이 농도-의존적으로 증가되는 것은 미분화된 B16F10 melanoma cell이 melanocyte로 정상적으로 분화되어 기능을 나타내는 것으로 이해할 수 있다. 따라서 PGP-EtOAc추출물은 B16F10 melanoma cell의 세포형태학적 및 분자생화학적 분화 촉진을 통해 암세포의 정상적인 분화를 유도하는 항암효능이 있는 것으로 추정된다.

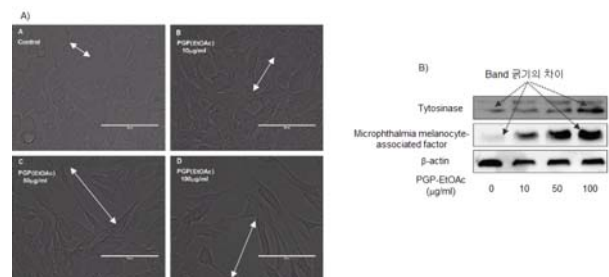


Fig. 11. Effect of PGP EtOAc extract on morphological changes of B16F10 melanoma cells(A), on the tyrosinase and MITF protein expressions in B16F10 melanoma cells(B). (Adapted from Park Hye-Jin)

4. 항암제의 telomerase 활성 저해를 통한 항암기전

1) 발암에 있어서 텔로머라제의 역할

최근 항암제의 텔로머라제(telomerase) 영향을 통한 항암 기전에 대한 연구가 다소 이루어지고 있다. 텔로머라제는 염색체의 양 끝에 위치하며 특정 염기서열의 반복적인 DNA인 텔로미어(telomere)를 합성하는 효소이다⁵⁹⁾. 텔로미어는 DNA이지만 특정 단백질을 발현할 수 있는 유전자는 아니다. 단지 세포분열에는 물리적 힘이 가해지기 때문에 이에 대한 유전자의 보호를 위해 텔로미어가 염색체 양 끝에 존재한다⁶⁰⁾. 텔로미어는 세포주기 또는 세포분열의 '유사분열시계(mitotic clock)' 역할을 한다⁶¹⁾. 텔로미어가 세포분열에 의해 지속적으로 짧아진다면 텔로미어는 없어져 세포분열 때 유전자 손상을 입게 된다. 따라서 텔로미어가 없어지기 전에 세포분열이 멈추어야 할 필요성이 있다. 이러한 연유로 세포분열과 더불어 짧아진 텔로미어가 특정길이에 도달하면 더 이상 세포분열이 되지 않는다. 즉 짧아진 특정길이가 신호가 되어 영구히 비가역적으로 세포분열이 정지되기 때문에 텔로미어가 세포분열의 유사분열시계 역할을 하는 것으로 비유된다. 만약 텔로미어를 합성하는 효소인 텔로머라제가 세포 내에 존재하면 세포분열 때 마다 소실되는 텔로미어를 합성하기 때문에 세포분열에 의한 텔로미어 손실도 없을 것이다. 그러나 텔로미어를 합성하는 효소인 텔로머라제는 일부 세포인 생식세포, 골수와 조혈세포 등을 제외한 사람의 모든 체세포에서는 활성이 없다. 따라서 모든 체세포는 텔로머라제가 없기 때문에 일정 수만큼 세포분열 후 비가역적 분열을 중지하게 되며 이를 세포의 복제세네넨스(replicative senescence) 현상이라고 한다⁶²⁾. 만약 텔로머라제가 모든 세포에 존재하여 분열에 따른 텔로미어 길이가 짧아지지 않는다면 세포의 세네넨스는 없어지고 세포가 영원히 죽지 않게 되는 현상을 가상할 수 있다.

텔로머라제는 대부분의 정상세포에는 활성이 없지만 암세포에서는 텔로머라제 활성이 확인되고 있어 항암 약물 개발에 있어서 주요 표적이 되고 있다. 일반적으로 암세포의 가장 중요한 특성은 영구불멸의 지속적인 분열이며 이는 텔로머라제 활성과 밀접한 관계가 있다⁶³⁾. Fig. 12에서처럼 지금까지 확인된 모든 암세포 중 90% 이상에서 텔로머라제의 활성이 증가되는 것이 확인되었다⁶⁴⁾. 이는 암세포의 무한한 세포분열의 특성을 갖는데 있어서 텔로머라제가 결정적인 역할을 한다는 것을 의미한다. 즉 암세포에서 텔로머라제 활성에 의해 텔로미어가 합성되어 텔로미어 단축에 의한 세네넨스가 암세포에서는 유도되지 않는다. 따라서 텔로머라제의 활성에 의한 텔로미어 길이 연장은 암세포의 특성을 유도하게 된다.

텔로머라제의 활성은 정상세포에서 telomerase reverse transcriptase(TERT, 텔로머라제 역전사효소) 유전자의 돌연변이에 의하여 유도된다. 유전자에 돌연변이가 발생하면 텔로미라제 활성이 증가된다. 이는 세포의 세네넨스 및 세포자멸 경로로의 진입을 막고 암세포로의 특성을 유도하게 된다. 사람의 텔로머라제는 2007년 그 구조가 확인되었는데 Fig. 13에서처럼 2개의 TERT, telomerase RNA(TERC)와 dyskerin(DKC1)의 소단위 단백질로 구성되어 있다⁶⁵⁾. 대부분의 체세포에서 텔로머라제 활성이 없는 이유는 텔로머라제를 구성하는 TERC는 발현되지만 TERT 발현이 억제되기 때문이다. 또한 TERT는 텔로미어의 capping을 합성하며 텔로미어 전체의

형태를 유지하는데 중요한 역할을 한다.

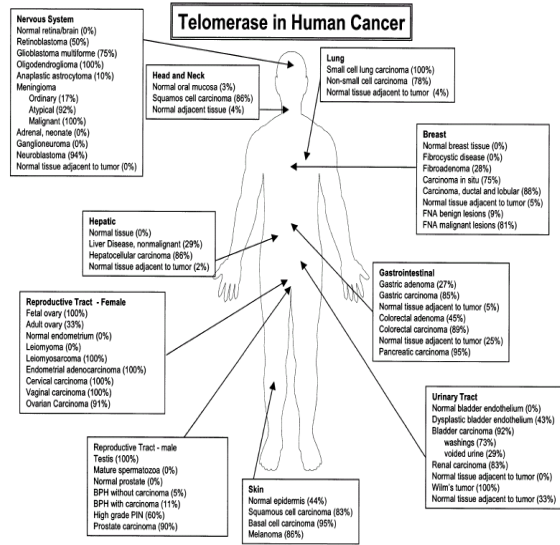


Fig. 12. Summary of telomerase activity expression in human cancers

(Adapted from Granger)

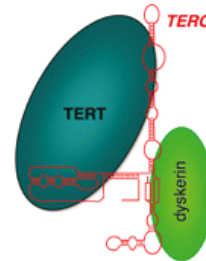


Fig. 13. Structure of telomerase

*TERT: telomerase reverse transcriptase, TERC: telomerase RNA, dyskerin:DKC1.

그러나 암종류의 약 90%에서 TERT 발현과 더불어 텔로머라제 활성이 나타나며 암세포의 지표로 이용되고 있다. 따라서 텔로머라제의 활성은 TERT의 발현이 필요하며 TERT 발현은 텔로미어 합성을 통해 세포의 세네넨스 이탈을 유도하여 세포 불멸화의 중요한 요인이 된다. 실제로 TERT 발현을 통한 텔로머라제 활성을 사람의 다양한 체세포에서 유도한 결과, 텔로미어 길이가 연장되며 세포의 불멸화가 이루어지는 것이 확인되었다. 현재까지 TERT의 발현 유도는 TERT 유전자에 바이러스 DNA의 삽입에 의한 돌연변이, 그리고 바이러스 단백질인 Hbx(viral X protein)와 preS2 단백질이 TERT 발현을 유도하는 것으로 일부 설명되고 있다. 또한 TERT 프로모터 부위에는 전사를 촉진하는 estrogen receptor, Sp1, Myc과 ER81의 결합부위가 존재하며 전사를 억제하는 D receptor, MZF-2, WT1, Mad, E2F1과 SMAD interacting protein-1의 결합부위가 존재한다. TERT 유전자의 프로모터에 의해 이들 단백질의 결합에 의해 전사가 유도 또는 억제되는 것으로 추정되고 있기도 하다. 그러나 체세포에서의 TERT 발현 억제와 암세포에서의 TERT 재활성 또는 발현에

대한 연구를 통해 이해가 더 필요하다.

이와 같이 사람의 다양한 암세포에서 텔로머라제 활성이 확인되고 있으며 이는 지속적인 세포분열의 원인이 된다. 따라서 암세포에서의 텔로머라제 활성 저해는 텔로미어 합성 저해를 통한 암세포의 세네센스를 유도하는 항암기전으로 응용될 수 있다. Table 6. 다양한 암세포에서 텔로머라제 활성을 저해하는 "inhibitor(저해물질)"을 나타낸 것이다⁶⁶⁻⁶⁷). 제1세대 항암제인 cisplatin도 사람의 맥락막흑색종(Human choroidal melanoma)에서 텔로머라제 활성을 저해한다. 이외에도 텔로머라제 활성 저해물질로 2,3,7-trichloro-5-nitroquinoxaline, BIBR 1532, gossypol, 3'-azido-3'-deoxythymidine, distamycin derivative, 3-(3,5-dichlorophenoxy)-nitrostyrene, telomestatin, pentacyclic acridine 등이 확인되었다. 그러나 이들 저해물질이 in vitro 수준에서 확인되었지만 실제적으로 in vivo에서 텔로머라제 활성 저해를 통한 항암효능이 있는 것에 대한 확인이 무엇보다도 중요하다. 많은 약물이 약리효능과 동시에 부작용도 유발한다. 텔로머라제 저해물질도 생체내에서 암세포의 증식을 억제할 수 있지만 정상적으로 텔로머라제 활성을 가지고 있는 조혈세포나 생식세포에서 작용한다면 부작용 발생도 고려해야 한다.

Table 6. Telomerase inhibitors

Telomerase inhibitor	cancer cells
Cisplatin	Human choroidal melanoma
2,3,7-trichloro-5-nitroquinoxaline	Human cancer cell
BIBR 1532	Human cancer cell
Gossypol	Gonadal cancer cell
3'-azido-3'-deoxythymidine	Osteosarcoma
Distamycin derivative	Human melanoma cell
3-(3,5-dichlorophenoxy)-nitrostyrene	Human cancer cell
Telomestatin	Interaction with G-quadruplex structure of telomerase
Pentacyclic acridine	Ovarian carcinoma cell

2) 한약재의 텔로머라제 활성에 대한 영향

① 동충하초: *Cordyceps militaris*(붉은동충하초, 이하 동충하초)의 항암기전이 암세포에서 텔로머라제 활성 저해로 일부 설명되고 있다⁶⁸). Fig. 14은 *Cordyceps militaris*의 열수추출물을 사람의 폐암종인 A549 cell에 투여한 후 텔로머라제 활성 및 관련된 단백질 활성을 측정하는 것이다. Fig. 20의 A)에서처럼 동충하초열수추출물에 의해 텔로머라제 활성이 A549 cell에서 용량-의존적으로 감소되었다. 텔로머라제를 구성하는 소단위 단백질 중에서 TERC보다 TERT에 의해 텔로머라제 활성이 이루어지기 때문에 동충하초의 TERT 활성에 대한 영향이 무엇보다도 중요하다. Fig. 14의 B)에서처럼 전기영동상에서 동충하초열수추출물 2mg/ml, 3mg/ml에 의해 TERC 단백질 발현은 대조군과 차이가 없었지만 동충하초열수추출물 3mg/ml 투여에 의해 TERT 단백질 발현이 거의 없었다. 따라서 동충하초는 텔로머라제의 활성을 억제하는데 이는 TERT 발현의 억제를 통해 이루어지는 것으로 추정된다. TERT 발현은 TERT 유전자 프로모터 부분에 Sp1과 c-myc(Myc 유전자의 단백질)이 결합하여 이루어진다. Fig.14의 B)에서처럼 동충하초열수추출물 2mg/ml, 3mg/ml에 의해 c-myc과 Sp1의 발현이 유의하게 감소되었다. 따라

서 동충하초열수추출물에 의한 텔로머라제 활성의 감소는 c-myc과 Sp1 활성 억제를 통해 TERT 발현 감소에 기인하는 것으로 추정된다. 이와 같이 동충하초추출물은 암세포 A549 cell에서 텔로머라제 활성을 감소시키는데 이는 궁극적으로 텔로미어 단축과 caspase 활성을 통한 암세포의 세포자멸을 유도기전을 통해 동충하초의 항암효능이 설명되고 있다.

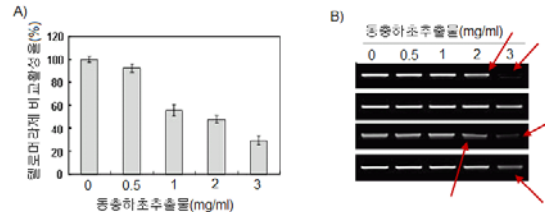


Fig. 14. Effects of *Cordyceps militaris*-water extracts on telomerase(A), and c-myc, SP1 related to TERT expression.

* TERT: telomerase reverse transcriptase. (Adapted from Park Sang Eun)

② Shugansanjie Tang: 목통(*Akebia Trifoliata* Koidz), 단삼(*Salvia Miltiorrhiza* bge), 당귀(*Angelica Sinensis* Diels), 삼칠삼(*Panax Notoginseng*)과 봉출(*Curcuma Zedoaria* Rose)로 구성된 Shugansanjie Tang은 텔로머라제 활성을 저해한다⁶⁹). Fig. 15에서처럼 Shugansanjie Tang(5 μg/ml)에 의한 유방암세포인 BT-483에서 TERT 발현 감소를 유도하는 것이 DAB(3,3'-Diaminobenzidine) 염색을 통해 비교되었다. DAB(3,3'-Diaminobenzidine)는 TERT를 염색하는 물질이다. Shugansanjie Tang 투여 전에 서처럼 TERT 활성을 가진 BT-483 세포가 많이 염색되었지만 Shugansanjie Tang 투여 후에는 TERT 활성을 가진 BT-483 세포가 없었다. 또한 Shugansanjie Tang에 의해 BT-483의 세포자멸이 증가되었다. 따라서 Shugansanjie Tang은 TERT 발현 억제 및 텔로머라제 활성 감소를 유도하여 BT-483 세포의 세포자멸을 증가시키는 것으로 항암기전을 설명할 수 있다.

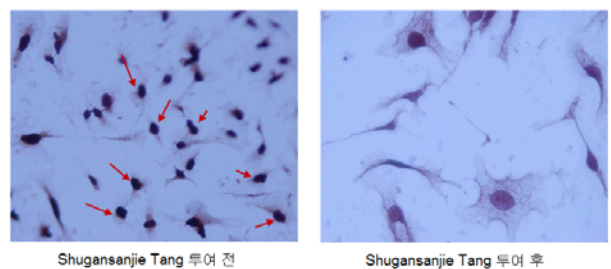


Fig. 15. Effects of Shugansanjie Tang on TERT expression in BT-483 cell.

* Red arrow: TERT(telomerase reverse transcriptase) stained by DAB(3,3'-Diaminobenzidine). (Adapted from Loo)

③ 길경: 사람의 폐암세포종에 있어서 길경(*Platycodon grandiflorum*)의 텔로머라제 활성과 세포자멸에 대한 영향이 확인되었다⁷⁰). 길경추출물의 투여 농도-의존적으로 A549 세포에서 텔로머라제 활성이 감소되었다. 또한 전기영동상에서 길경열수추출물에 의해 TERC 단백질 발현은 차이가 없었지만 TERT 단백질 발현이 감소되었다. 일반적으로 텔로머라제

활성은 TERT 소단위 발현 유무에 결정된다. 따라서 길경추출물은 텔로머라제 활성의 감소를 유도하며 이는 길경추출물에 의한 TERT 소단위의 발현 저해에 기인한다. 또한 길경추출물에 의한 텔로머라제 활성 감소와 더불어 세포자멸도 유도되었다.

④ 홍삼: 우리나라 홍삼(Korean red ginseng, *Panax ginseng* C.A. Meyer Radix rubra)에서 얻은 추출물을 백혈병 암세포에 처리한 후 텔로머라제 활성 및 농도를 측정하였다⁷¹⁾. 홍삼추출물에 의해 농도-의존적으로 텔로머라제 발현이 감소되며 특히 홍삼추출물 1.6 mg/ml을 처리한 군에서는 텔로머라제 발현이 거의 없었다. 또한 홍삼추출물에 의해 백혈병 암세포의 세포자멸이 유도되었다. 따라서 홍삼추출물은 암세포의 지속적인 분열을 유도하는 텔로머라제의 활성 저해를 통해 항암효능의 일부로 설명되고 있다.

요약 및 결론

본 고찰에서는 세포자멸(apoptosis), 염증조절, 분화, telomerase 활성에 대한 영향을 통해 한약재의 항암기전이 설명되었다. 정상세포의 암세포의 전환되는 과정에서 세포자멸은 암세포의 증식을 막는 중요한 생체 방어기전이라고 할 수 있다. 한약의 세포자멸(apoptosis) 유도를 통한 항암기전에서는 계열등과 복령-당귀탕에 확인되었다. 계열등은 intrinsic pathway 경유를 활성화하여 세포자멸을 유도하며 복령-당귀탕도 DNA 단편 형성을 통해 세포자멸을 유도하는 것으로 확인되었다.

염증은 일회성으로 발생하지만 10 여년의 장기간 지속적으로 발생한다면 염증은 다양한 암 유발을 하는 것으로 추정되고 있다. 궤양성대장염은 대장암, 천식은 폐암, 그리고 난소, 췌장에서의 염증은 난소암 및 우췌상암, 또한 신체 전부위에 걸쳐 염증이 발생하는 질환인 유육종증은 신체의 여러 조직 및 부위에서 다양한 암을 유발할 수 있다. 특히 Arachidonic acid의 산화를 촉진하여 염증매개물질을 합성하는 COX-2 활성 증가에 의한 발암이 다양한 라디칼성 물질과 친전자성물질의 생성과 밀접한 관계가 있다. 특히 COX-2의 활성이 증가되면 유해활성산소 역시 증가된다. 한약의 항염증 효능을 통한 항암 기전은 황금추출물과 황금의 주요 유효성분인 baicalin 투여를 통해 확인되었다. 이들의 투여를 통해 2종의 사람편 평상피암종인 KB와 SCC-25 암세포주의 억제되었으며 이러한 암세포 증식 억제는 COX-2 발현 억제와 밀접한 관계가 있다.

암발생의 이론 중에서 암줄기세포 이론이 근래에 많이 주장되고 있으며 또한 이에 대한 이해를 통해 암치료 방법도 제시되고 있다. 이는 암줄기세포의 분화 특성이 배아줄기세포와 성체줄기세포의 분화 특성과 유사하다는 측면 때문이다. 즉 줄기세포의 분화에서처럼 암세포도 암줄기세포가 있다는 것이 암의 암줄기세포 이론이다. 이렇게 형성된 암조직내에서 암줄기세포가 차지하는 비율은 약 1% 정도로 추정되는데 이들은 미분화 또는 저분화되어 있는 세포의 상태이다. 다양한 방법을 통해 암세포를 최종적으로 정상적인 분화를 유도하여 정상적인 세포로 전환시키는 암치료 방법을 분화요법이다. 시호의 saikosaponin은 triterpene saponin의 일종으로 시호의 주요 유효성분이다. Saikosaponin 투여 후, 이들 효소들의 활성 증가를 통해 암세포인 신경교종이 cell이 정상적인 세포인

희돌기세포와 정상세포로 분화가 되었다는 것이 확인되었다. 인삼에서 자란 상황버섯-ethyl acetate 추출물도 세포인 흑색세포종의 세포형태학적 및 분자생화학적 분화 촉진을 통해 멜라닌생성세포로의 정상적인 분화를 유도하는 항암효능이 있는 것으로 추정된다.

최근 한약재의 텔로머라제(telomerase) 영향을 통한 항암 기전에 대한 연구가 다소 이루어지고 있다. 텔로머라제는 염색체의 양 끝에 위치하며 특정 염기서열의 반복적인 DNA인 텔로미어(telomere)를 합성하는 효소이다. 일반적으로 암세포의 가장 중요한 특성은 연구불멸의 지속적인 분열이며 이는 텔로머라제 활성과 밀접한 관계가 있다. 지금까지 확인된 모든 암세포 중 90% 이상에서 텔로머라제의 활성이 증가되는 것이 확인되었다⁶⁴⁾. 이는 암세포의 무한한 세포분열의 특성을 갖는데 있어서 텔로머라제가 결정적인 역할을 한다는 것을 의미한다. 이러한 연유로 텔로머라제는 대부분의 정상세포에는 활성이 없지만 암세포에서는 텔로머라제 활성이 확인되고 있어 항암 약물 개발에 있어서 주요 표적이 되고 있다. 동충하초추출물을 비롯하여 길경과 홍삼은 암세포에서 텔로머라제 활성을 감소시키는데 궁극적으로 텔로미어 단축과 caspase 활성을 통한 암세포의 세포자멸을 유도하는 항암효능이 있는 것으로 추정되고 있다.

참고문헌

1. American Cancer Society. "The History of Cancer". September 2009.
2. Li XJ, Zhang HY. Western-medicine-validated anti-tumor agents and traditional Chinese medicine. Trends Mol Med. 2007 ; 14(1) : 1-2.
3. Kessler RC, Davis RB, Foster DF, van Rompay MI, Walters EE, Wilkey SA, et al. Long-term trends in the use of complementary and alternative medical therapies in the United States. Ann Intern Med. 2001 ; 135(4) : 262-268.
4. Dobos GJ, Tan L, Cohen MH, McIntyre M, Bauer R, Li X, et al. Are national quality standards for traditional Chinese herbal medicine sufficient?: Current governmental regulations for traditional Chinese herbal medicine in certain Western countries and China as the Eastern origin country. Complement Ther Med. 2005 ; 13(3) : 183-190.
5. RUAN WJ, LAI MD, ZHOU JG. Anticancer effects of Chinese herbal medicine, science or myth? J Zhejiang Univ Science B. 2006 ; 7(12) : 1006-1014.
6. Majno G, Joris I. Apoptosis, oncosis and necrosis: an overview of cell death. Am J Pathol. 1995 ; 146 : 3-15.
7. Park YC. The molecular-biochemical principles of toxicology. KSI Co. 2010 ; ISBN 978-89-268-1259-4.
8. Yang J, Xu ZP, Huang Y, Hope E, Hamrick, Penelope J, Duerksen-Hughes, Ying-Nian Y. ATM

- and ATR: Sensing DNA damage, *World J Gastroenterol*, 2004 ; 10(2) : 155-160.
9. Wang ZY, Wang DM, Loo TY, Cheng Y, Chen LL, Shen JG, Yang DP, Chow LW, Guan XY, Chen JP. Spatholobus suberectus inhibits cancer cell growth by inducing apoptosis and arresting cell cycle at G2/M checkpoint. *J Ethnopharmacol*. 2011 ; 133 : 751-758.
 10. Dickson MA, Schwartz GK. Development of cell cycle inhibitors for cancer therapy. *Curr Oncol*. 2009 ; 16 : 36-43.
 11. Li J, Yuan J. Caspases in apoptosis and beyond. *Oncogene*. 2008 ; 27 : 6194-6206.
 12. Suen DF, Norris KL, Youle RJ. Mitochondrial dynamics and apoptosis. *Genes & Development*. 2008 ; 22 : 1577-1590.
 13. Liu CY, Lee CF, Wei YH. Role of reactive oxygen species-elicited apoptosis in the pathophysiology of mitochondrial and neuro degenerative diseases associated with mitochondrial DNA mutations. *J Formos Med Assoc*. 2009 ; 108 : 599-611.
 14. Lian Z, Niwa K, Gao J, Tagami K, Mori H, Tamaya T. Association of cellular apoptosis with anti-tumor effects of the Chinese herbal complex in endocrine-resistant cancer cell line. *Cancer Detect Prev*. 2003 ; 27 : 147-154.
 15. Fitzpatrick, FA. Inflammation, carcinogenesis and cancer. *International Immunopharmacology*. 2001 ; 1 : 1651-1667.
 16. Morson BC. Precancer and cancer in inflammatory bowel disease. *Pathology*. 1985 ; 17 : 173-80.
 17. Vesterinen E, Pukkala E, Timonen T, Aromaa A. Cancer incidence among 78,000 asthma patients. *Int J Epidemiol*. 1993 ; 22 : 976-82.
 18. Ekblom A, Helmnick C, Zack M, Adami HO. Ulcerative colitis and colorectal cancer, a population based study. *N Engl J Med*. 1990 ; 323 : 1228-33.
 19. Lashner BA. Colorectal cancer in ulcerative colitis patients: survival curves and surveillance. *Cleveland Clin J Med*. 1994 ; 61 : 272-275.
 20. Aarnio M, Mustonen H, Mecklin JP, Jarvinen HJ. Prognosis of colorectal cancer varies in different high risk conditions. *Ann Med*. 1998 ; 30 : 75-80.
 21. Ekblom A, Helmick CG, Zack M, Holmberg L, Adami HO. Survival and causes of deaths in patients with inflammatory bowel disease: a population based study. *Gastroenterology*. 1992 ; 103 : 954-960.
 22. Singer II, Kawka DW, Schloemann S, Tessner T, Riehl T, Stenson WF. Cyclooxygenase 2 is induced in colonic epithelial cells in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 1998 ; 115 : 297-306.
 23. Agoff SN, Brentnall TA, Crispin DA, Taylor SL, Raaka S, Haggitt RC, et al. The role of cyclooxygenase 2 in ulcerative colitis-associated neoplasia. *Am J Pathol*. 2000 ; 157(3) : 737-745.
 24. Vesterinen E, Pukkala E, Timonen T, Aromaa A. Cancer incidence among 78,000 asthma patients. *Int J Epidemiol*. 1993 ; 22 : 976-82.
 25. Huovinen E, Kaprio J, Vesterinen E, Koskenvuo M. Mortality of adults with asthma: a prospective cohort study. *Thorax*. 1997 ; 52 : 49-54.
 26. Kallen B, Gunnarskog J, Conradson TB. Cancer risk in asthmatic subjects selected from hospital discharge registry. *Eur Respir J*. 1993 ; 6 : 694-697.
 27. Askling J, Grunewald J, Eklund A, Hillerdal G, Ekblom A. Increased risk for cancer following sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999 ; 160(5 Pt 1) : 1668-1672.
 28. Rosin MP, Anwar WA, Ward AJ. Inflammation, chromosomal instability, and cancer: the schistosomiasis model. *Cancer Res*. 1994 ; 54(7 Suppl) : 1929S-1933S.
 29. Burin GJ, Gibb HJ, Hill RN. Human bladder cancer: evidence for a potential irritation-induced mechanism. *Food Chem Toxicol*. 1995 ; 33 : 785-795.
 30. Persky L. Epidemiology of cancer of the penis. *Recent Results Cancer Res*. 1977 ; 60 : 97-109.
 31. Carlson JA, Ambros R, Malfetano J, Ross J, Grabowski R, Lamb P, et al. Vulvar lichen sclerosus and squamous cell carcinoma: a cohort, case control, and investigational study with historical perspective: implications for chronic inflammation and sclerosis in the development of neoplasia. *Hum Pathol*. 1998 ; 29 : 932-948.
 32. Mayron R, Grimwood RE, Siegle RJ, Camisa C. Verrucous carcinoma arising in ulcerative lichen planus of the soles. *J Dermatol Surg Oncol*. 1988 ; 14 : 547-551.
 33. Schildkraut JM, Bastos E, Berchuk A. Relationship between lifetime ovarian cycles and overexpression of mutant p53 in epithelial ovarian cancer. *J Natl Cancer Inst*. 1997 ; 89 : 932-938.
 34. Kern SE. Molecular genetic alterations in ductal pancreatic adenocarcinomas. *Med Clin North Am*. 2000 ; 84 : 691-695.
 35. Coogan PF, Rosenberg L, Louik C, Zauber AG, Stolley PD, Strom BL, et al. NSAIDs and risk of colorectal cancer according to presence or absence of family history of the disease. *Cancer Causes Control*. 2000 ; 11(3) : 249-255.
 36. Lewis JG, Adams DO. Inflammation, oxidative DNA damage, and carcinogenesis. *Environ Health Perspect*.

- 1987 ; 76 : 19–27.
37. Jackson JH, Gajewski E, Schraufstatter IU, Hyslop PA, Fuciarelli AF, Cochrane CG, et al. Damage to the bases in DNA induced by stimulated human neutrophils. *J Clin Invest*. 1989 ; 84(5) : 1644–1649.
 37. Weitzman SA, Weitberg AB, Clark EP, Stossel TP. Phagocytes as carcinogens: malignant transformation produced by human neutrophils. *Science*. 1985 ; 227(4691) : 1231–1233.
 38. Weitzman SA, Gordon LI. Inflammation and cancer: role of phagocyte-generated oxidants in carcinogenesis. *Blood*. 1990 ; 76(4) : 655–663.
 39. Fu JY, Masferrer JL, Seibert K, Raz A, Needleman P. The induction and suppression of prostaglandin H₂ synthase (cyclooxygenase) in human monocytes. *J Biol Chem*. 1990 ; 265 : 16737–16740.
 40. Lipsky PE, Abramson SB, Breedveld FC, Brook P, Burmester R, Buttgerit F, et al. Analysis of the effect of COX-2 specific inhibitors and recommendations for their use in clinical practice. *J Rheumatol*. 2000 ; 27 : 1338–1340.
 41. Chung FL, Nath RG, Ocampo J, Nishikawa A, Zhang L. Deoxyguanosine adducts of t-4-hydroxy-2-nonenal are endogenous DNA lesions in rodents and humans: detection and potential sources. *Cancer Res*. 2000 ; 60 : 1507–1511.
 42. Surette ME, Fonteh AN, Bernatchez C, Chilton FH. Perturbations in the control of cellular arachidonic acid levels block cell growth and induce apoptosis in HL-60 cells. *Carcinogenesis*. 1999 ; 20 : 757–763.
 43. Hainaut P, Hollstein M. p53 and human cancer: the first ten thousand mutations. *Adv Cancer Res*. 2000 ; 77 : 81–137.
 44. Ozturk Mehmet, Ayca Arslan-Ergul, Sevgi Bagislar, Serif Senturk, Haluk Yuzugullu. Senescence and immortality in hepatocellular carcinoma. *Cancer Letters*. 2009 ; 286 : 103–113.
 45. Schildkraut JM, Bastos E, Berchuk A. Relationship between lifetime ovarian cycles and overexpression of mutant p53 in epithelial ovarian cancer. *J Natl Cancer Inst*. 1997 ; 89 : 932–938.
 46. Moos PJ, Edes K, Fitzpatrick FA. Inactivation of the wild type p53 tumor suppressor by electrophilic prostaglandins. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000 ; 97(16) : 9215–9220.
 47. Zhang, David Y, Josephine Wu, Fei Ye, et al. Inhibition of Cancer Cell Proliferation and Prostaglandin E₂ Synthesis by *Scutellaria Baicalensis*. *Cancer Res*. 2003 ; 63 : 4037–4043.
 48. Arey LB. *Developmental anatomy: a textbook and laboratory manual of embryology*. 7th ed. London : WB Saunders Co. 1974 : 58–70.
 49. Sherley JL. Asymmetric cell kinetics genes: the key to expansion of adult stem cells in culture. *Stem Cells*. 2002 ; 20 : 561–572.
 50. Sell S. Stem cell origin of cancer and differentiation therapy. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2004 ; 51 : 1–28.
 51. Pierce GB, Shikes R, Fink LM. *Cancer: a problem of developmental biology*. Englewood Cliffs NJ : Prentice-Hall Inc. 1978 : 242.
 52. Scott RE. Differentiation, Differentiation/Gene Therapy and Cancer. *Pharmacol Ther*. 1997 ; 73(1) : 51–65.
 53. Yuspa SH. The pathogenesis of squamous cell cancer: lessons learned from studies of skin carcinogenesis—Thirty-third G. H. A. Clowes Memorial Award Lecture. *Cancer Res*. 1994 ; 54 : 1178–1189.
 54. Garder RL. Extrinsic factors in cellular differentiation. *Int J Dev Biol*. 1993 ; 37 : 47–50.
 55. Yen A, Roberson MS, Varvayanis, S, & Lee AT. Retinoic acid induced mitogen-activated protein (MAP)/extracellular signal-regulated kinase (ERK) kinase-dependent MAP kinase activation needed to elicit HL-60 cell differentiation and growth arrest. *Cancer Res*. 1998 ; 58 : 3163–3172.
 56. Kiyokawa, H, Richon, VM, Venta-Perez, G, Rifkind, RA, & Marks, PA. Hexamethylenebisacetamide-induced erythroleukemia cell differentiation involves modulation of events required for cell cycle progression through G₁. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 6746–6750.
 57. Tsai YJ, Chen IL, Horng LY, Wu RT. Induction of Differentiation in Rat C6 Glioma Cells with Saikosaponins. *Phytother Res*. 2002 ; 16 : 117–121.
 58. Park HJ, Han ES, Park DK. The ethyl acetate extract of PGP (*Phellinus linteus* grown on *Panax ginseng*) suppresses B16F10 melanoma cell proliferation through inducing cellular differentiation and apoptosis. *J Ethnopharmacol*. 2010 ; 132 : 115–121.
 59. Moyzis RK, Buckingham JM, Cram LS, et al. A highly conserved repetitive DNA sequence (TTAGGG)_n, present at the telomeres of human chromosomes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1988 ; 85 : 6622–6626.
 60. Griffith JD, Comeau L, Rosenfield S, et al. Mammalian telomeres end in a large duplex loop. *Cell* 1999 ; 97 : 503–514.
 61. Shay JW, Wright WE. Hayflick, his limit, and cellular ageing. *Nature Rev Mol Cell Biol*. 2000 ; 1 : 72–76.

62. Wright WE, Shay JW. Cellular senescence as a tumor-protection mechanism: the essential role of counting. *Curr Opin Genet Dev*. 2001 ; 11 : 98-103.
63. Meyerson M. Role of telomerase in normal and cancer cells. *J Clin Oncol*. 2000 ; 18 : 2626-2634.
64. Granger MP, Wright WE, Shay JW. Telomerase in cancer and aging. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2002 ; 41 : 29-40.
65. Cohen SB, et al. Protein composition of catalytically active human telomerase from immortal cells. *Science*. 2007 ; 315(5820) : 1850-1853.
66. Wang E, Lee MJ, Pandey S. Control of fibroblast senescence and activation of programmed cell death. *J Cell Biochem*. 1994 ; 54 : 432-439.
67. Zaffaroni N, Lualdi S, Villa R, Bellarosa D, Cermele C, Felicetti P, Rossi C, Orlandi L, Daidone MG. Inhibition of telomerase activity by a distamycin derivative: effects on cell proliferation and induction of apoptosis in human cancer cells. *Eur J Cancer*. 2002 ; 38(13) : 1792-801.
68. Park SE, Yoo HS, Jin CY, Hong SH, Lee YW, Kim BW, Lee SH, Kim WJ, Cho CK, Choi YH. Induction of apoptosis and inhibition of telomerase activity in human lung carcinoma cells by the water extract of *Cordyceps militaris*. *Food and Chem Toxicol*. 2009 ; 47 : 1667-1675.
69. Loo, TY, JP Chen, Louis WC Chow, Jeffrey WK, Chou. Effects of Shugansanje Tang on matrix metalloproteinases 1, 3 and 9 and telomerase reverse transcriptase expression in human breast cells in vitro. *Biomed Pharmacother*. 2007 ; 61 : 601-605.
70. Park DI, Lee JH, Moon SK, Kim CH, Lee YT, Cheong JH, Choi BT, Choi YH. Induction of apoptosis and inhibition of telomerase activity by aqueous extract from *Platycodon grandiflorum* in human lung carcinoma cells. *Pharmacol Res*. 2005 ; 51 : 437-443.
71. Park, SE, Park, C, Kim, SH, Hossain, MA, Kim, MY, Chung, HY, Son, WS, Kim, GY, Choi, YH, Kim, ND. Korean red ginseng extract induces apoptosis and decreases telomerase activity in human leukemia cells. *J Ethnopharmacol*. 2009 ; 121 : 304-312.