

## MCF-7에서 Cisplatin과 타우린의 병용처리로 인한 항암효과 및 관련 기전

김태희 · 김안근<sup>#</sup>

숙명여자대학교 약학대학

(Received February 15, 2013; Revised February 25, 2013; Accepted February 26, 2013)

### Anticancer Effects and Mechanisms of Co-Treatment of Cisplatin with Taurine in MCF-7 Cells

Taehee Kim and An Keun Kim<sup>#</sup>

College of Pharmacy, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea

**Abstract** — The objective of this study is to evaluate the synergic effects of combined treatment with taurine and cisplatin in human breast cancer, MCF-7 cells. For this study, MCF-7 cells were treated with taurine (5, 10, and 20 mM) and cisplatin (0.5  $\mu$ M) for 48 and 72 hrs. Co-treatment of cisplatin with taurine decreased cell proliferation more compared with cisplatin alone. Reduced cell proliferation was caused by apoptosis. Therefore we investigated the apoptotic cells. After treatment of cisplatin and taurine, apoptotic cells were slightly increased. Apoptosis-related proteins, cleaved caspases and cytochrome c were increased. The present study suggests that combination treatment of cisplatin with taurine enhance anticancer activity of cisplatin in MCF-7 cells.

**Keywords** □ MCF-7, caspase, apoptosis, cisplatin, taurine

유방암은 우리나라 여성암중 2위를 차지하는 암이며, 식생활과 생활습관의 변화 등으로 발병률이 증가하고 있는 추세이다.<sup>1)</sup> 가장 광범위하게 사용되고 있는 치료 방법은 암조직을 제거하는 수술요법이며, 이후에 방사선요법이나 화학요법으로 남은 암세포의 사멸을 유도하게 된다.<sup>2)</sup> 유방암의 경우 다른 종류의 암과 비교할 때 임파선을 통해 다른 조직으로 전이될 확률이 높기 때문에 광범위한 항암요법을 시행하는 경우가 많다.<sup>3)</sup> 이 때 항암제는 암세포 뿐 아니라 정상세포에도 작용하여 신장독성, 간독성, 탈모, 골수 기능저하 등의 부작용이 나타나게 된다.<sup>4,5)</sup> 항암제의 부작용으로 인해 항암치료가 더 이상 불가능 하거나, 또 다른 질병을 야기할 수 있으므로, 항암제의 부작용을 감소시키면서 항암제의 효과가 유지시킬 수 있는 방법이 지속적으로 연구되고 있다. 항암제의 효과를 증진시키기 위한 방법으로는 다른 종류의 항암제를 함께 투여하거나, 기존의 항암제와 함께 천연물질을 병용투여 하는 방법 등이 있다. 여러 종류의 항암제를 병용 투여하는 것은 항암제의 효능을 높이는데 용이하나 부작용을 감소시키는 경우가 적다. 반면, 천연물과 병용 처리 하는 것은 투

여하는 항암제의 농도를 낮춤으로써 부작용을 감소시킬 수 있는 가능성을 내포하고 있다. 따라서 최근에는 천연물과 항암제를 함께 투여하는 방법이 주목받고 있다.<sup>6-8)</sup>

타우린은 1827년 황소의 쓸개즙으로부터 분리된 황아미노산의 일종이다. 타우린은 눈이나 뇌를 포함한 조직과 생체액에 유리아미노산으로 존재하며, 담즙산의 포합, 두뇌발달, 심장근육의 조절, 망막의 광수용체 활성화 등의 생물학적 기능을 가지고 있다.<sup>9-11)</sup> 정상세포에 타우린을 고농도로 처리한 경우에도 세포증식을 증가시킨다는 연구결과가 발표된 바 있으며, 이를 통하여 타우린은 정상세포에서 독성을 나타내지 않는다는 것을 알 수 있다.<sup>12-14)</sup> 이러한 타우린의 특성 때문에 타우린이 항암제에 미치는 영향에 대한 연구가 꾸준히 진행되고 있다. 최근 발표된 논문들은 타우린이 다양한 항암제의 부작용을 감소시킨다는 것을 시사한다. Cisplatin의 투여로 인해 발생된 신장독성이 감소한다는 연구결과가 있으며,<sup>15)</sup> 동물실험에서 doxorubicin으로 발생한 심장독성을 억제한다는 논문이 발표된 바 있다.<sup>16,17)</sup> 또한 doxorubicin으로 인해 발생된 활성산소를 감소시킴으로서 항암제의 부작용을 감소시킨다는 연구 결과가 있다.<sup>18)</sup> 타우린은 항암제의 부작용을 감소시킬 뿐 아니라 항암효과가 유지되는데 도움을 준다는 보고도 있다. 타우린이 doxorubicin의 efflux를 증가시켜 결과적으로 혈액 내에 항암제 농도가 높아져 항암효과를 높인다는 연구 결

<sup>#</sup>본 논문에 관한 문의는 저자에게로  
(전화) 02-710-9566 (팩스) 02-710-9871  
(E-mail) akkim@sookmyung.ac.kr

과가 발표된 바 있다.<sup>19)</sup>

최근 자궁경부암세포에서 타우린과 cisplatin을 병용치리 하였을 때의 항암효과에 관한 연구 결과가 보고된 적이 있으나<sup>20)</sup> 유방암 세포주를 비롯한 다른 암세포에서의 연구는 거의 이루어져 있지 않은 실정이다.

그러므로 본 연구에서는 항암제인 cisplatin과 타우린을 유방암세포인 MCF-7에 병용 투여하였을 때 일어나는 apoptosis와 그와 관련된 기전을 연구하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 시약

본 실험에서는 유방암 세포인 MCF-7을 사용하였으며, 세포는 한국 세포주은행(KCLB; Korean Cell Line Bank, Korea)에서 구입하였다. 세포 배양에 사용된 RPMI1640, fetal bovine serum (FBS), 항생제(penicillin/streptomycin)는 WelGENE(Daegu, South Korea)에서 구입하였다. 타우린은 Acros Organics(Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)에서 구입하였으며, cisplatin은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 구입한 타우린과 cisplatin은 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 용해하여 사용하였으며, 약물 처리 후 배지 내의 DMSO 농도가 0.1%가 되도록 세포에 처리하였다. Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide (MTT)와 DAPI(4',6-Diamidino-2-phenylindole dihydrochloride)는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. p53, phospho-p53(ser15), phospho-p53(ser20), cleaved caspase-6, cleaved caspase-7, caspase-8, cleaved caspase-9, PARP, cleaved PARP, bcl-2, BAX,  $\beta$ -actin의 항체는 Cell Signaling(Danvers, MA, USA)에서 구입하였으며, cytochrome c는 BD Biosciences (San Jose, CA, USA)에서 구입하였다. 단백질 발현의 검출은 Amersham Pharmacia Biotech(Piscataway, NJ, USA)에서 detection kit(ECL solution)를 구입하여 사용하였다.

### 세포배양 및 약물의 처리

유방암 세포인 MCF-7 세포는 10%의 FBS와 항생제(penicillin 50 U/ml, streptomycin 50  $\mu$ g/ml)가 포함된 RPMI1640 배지에서 5% CO<sub>2</sub>, 37°C의 환경을 유지시켜주며 배양하였다. 세포증식과 세포사멸 실험을 위하여, 세포에 타우린 또는 cisplatin을 48 또는 72시간 동안 처리하였으며, 타우린은 5, 10, 20 mM, cisplatin은 5  $\mu$ M로 단독 또는 병용치리 하였다.

### 세포 증식을 측정

세포 증식을 측정하기 위하여 MTT assay를 사용하였다. 세포에 48 또는 72시간 동안 타우린과 cisplatin을 단독 또는 병용치리한 후, methyl thiazolyl tetrazolium(MTT)을 첨가하였다. 4

시간 후 형성된 formazan crystal을 DMSO로 녹인 후 microplate reader(EL800, Bio-TEK instrument inc., Winooski, VT, USA)의 흡광도 540 nm에서 측정하였다.

### 세포 사멸 관찰

세포의 사멸을 관찰하기 위하여 DAPI 염색법을 사용하였다. 세포에 48 또는 72시간 동안 타우린과 cisplatin을 단독 또는 병용치리한 후 methanol과 DMSO가 4:1로 섞여있는 용액을 사용하여 4°C에서 24시간 동안 세포를 고정시킨다. 세포 고정 후 0.2% triton X-100이 포함된 PBS로 세척한 후에 1  $\mu$ g/ml의 농도가 되도록 DAPI를 처리한 후 형광현미경상에서 세포 사멸을 관찰한다.

### 단백질 발현 측정

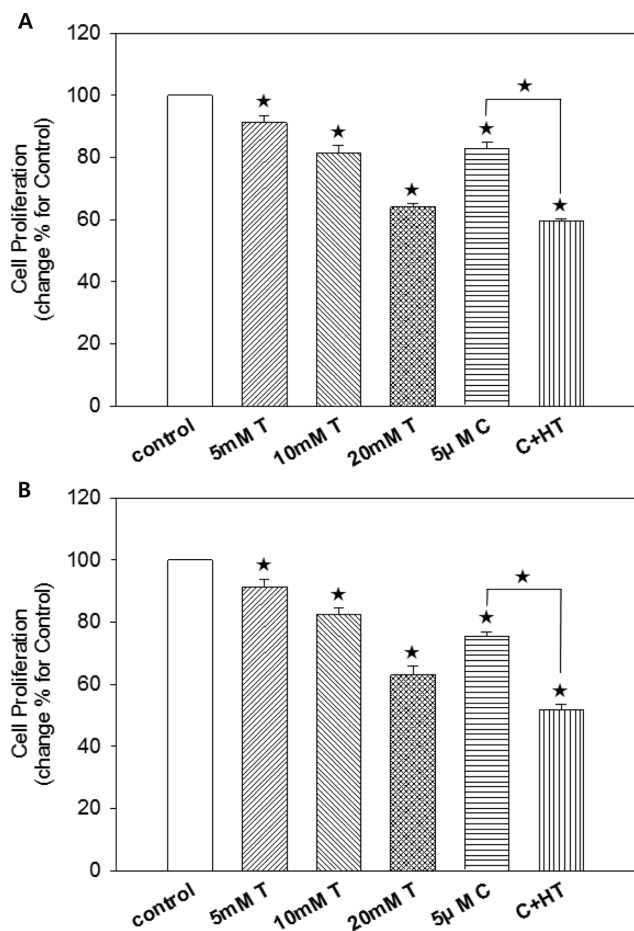
단백질 발현은 western blotting으로 측정하였다. 세포는 protease inhibitor가 포함된 RIPA buffer(1% NP-40, 150 mM NaCl, 0.05% DOC, 1% SDS, 50 mM Tris-Cl(pH 7.5))로 lysis시켜 4°C에서 1시간 동안 방치하였다. 원심분리를 통하여 상층액을 분리하였으며, Bradford protein assay kit II(Bio-rad, Hercules, CA, USA)를 사용하여 단백질의 양을 정량 하였다. 단백질(25  $\mu$ g/well)은 denature하여 10% SDS-polyacrylamide gel을 이용하여 전기영동하였다. 전기영동 후 단백질을 nitrocellulose membrane(0.45  $\mu$ m)에 transfer 시킨다. Membrane은 5% non-fat milk로 3시간 동안 blocking한 뒤 0.1% tween-20이 포함된 PBS로 세척하였으며, 1차 항체를 첨가 후 4°C에서 12시간 이상 반응시켰다. 12시간 반응 후, membrane을 세척하여 2차 항체와 2시간 동안 실온에서 반응시켰다. 단백질의 발현은 ECL advanced detection kit(GE Healthcare Bio-Sciences Corp., NJ, USA)를 사용하여 LAS-3000(Fujifilm, Tokyo, Japan)에서 관찰하였다.

### 통계 분석

모든 실험값은 임의대로 100%로 표시한 대조군에 대하여 백분율로 나타내었다. 실험 결과는 Tukey test(SigmaStat; Jandel, San Rafael, CA, USA)로 검정하였으며, p값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

## 실험결과 및 고찰

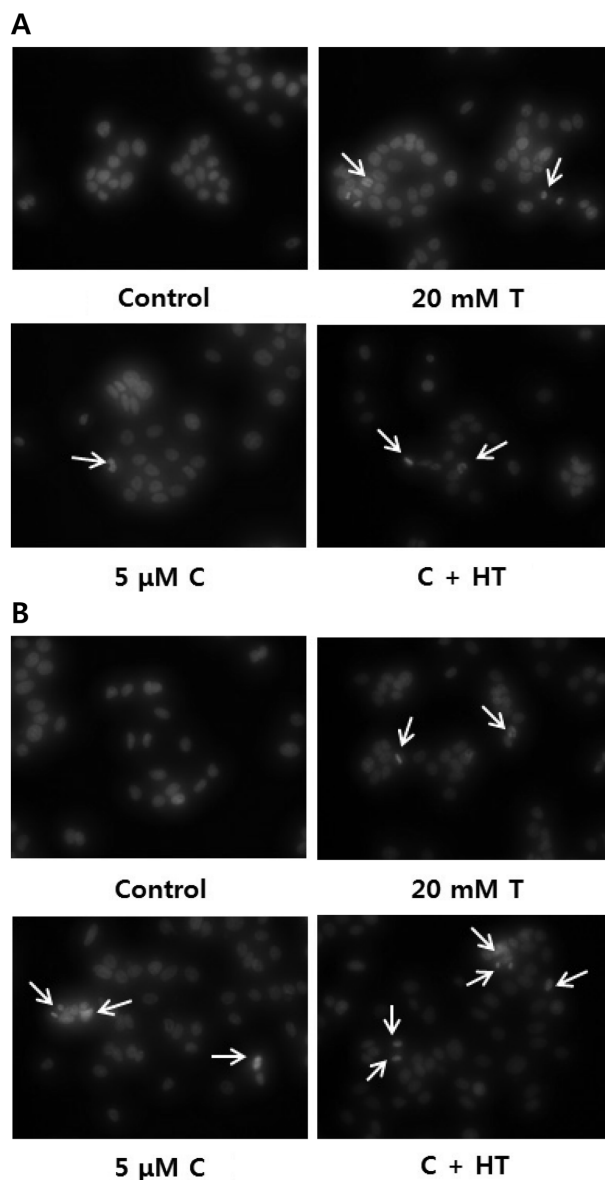
타우린과 cisplatin을 세포에 처리하였을 때 세포증식에 영향을 미치는지 조사하기 위하여 MTT assay를 시행하였다. 타우린 또는 cisplatin의 단독 처리 시 세포증식의 변화를 확인하기 위하여, 48시간 또는 72시간 동안 타우린은 5, 10, 20 mM의 농도로 처리하였으며, cisplatin은 5  $\mu$ M로 처리하였다. 실험결과 세포증식은 타우린의 처리 농도와 시간이 증가함에 따라 더 억제되었



**Fig. 1** – Co-treatment of taurine with cisplatin decreased cell proliferation in MCF-7 cells. Cells were treated with different concentration of taurine and cisplatin (0, 5, 10, and 20 mM of taurine and 5  $\mu$ M of cisplatin) for 48 (A) and 72 hrs (B). Cell proliferation was determined using the MTT assay. \* $p < 0.001$ , significantly different from the control group.

다(Fig. 1). 이러한 결과는 이전 타우린을 10 mM로 단독 처리 하였을 때 신경줄기세포증식이 120% 증가시킨다는 기존의 논문<sup>21)</sup>과 상반된 결과이다. 이는 실험에서 사용된 세포가 이전 논문에서 사용되는 정상세포와 달리 암세포이기 때문인 것으로 사료된다. 본 실험결과를 통하여, 암세포에 고농도의 타우린을 처리함으로써 암의 증식을 억제할 수 있는 가능성을 시사한다.

타우린과 cisplatin을 병용처리 하였을 때 세포증식의 효과를 알아보기 위하여 48 또는 72시간 동안 타우린 20 mM과 cisplatin 5  $\mu$ M을 동시에 처리하였다. Cisplatin의 IC<sub>50</sub>는 자궁경부암 세포에서 9.6  $\mu$ M, 유방암 세포주에서 43~60  $\mu$ M로 알려져 있다.<sup>22,23)</sup> 실험에서 사용된 cisplatin의 농도는 부작용을 나타내지 않는 저농도인 5  $\mu$ M이므로, 세포 증식 또한 효과적으로 억제하지 못하였다. 그러나 타우린과 병용 처리한 경우 cisplatin의 단독처리에 비하여 세포증식을 유의적으로 감소시켰다(Fig. 1). 본 실험 결과



**Fig. 2** – Taurine enhanced apoptosis-induced cisplatin in MCF-7 cells. Cell were treated with 20 mM of taurine and 5  $\mu$ M of cisplatin for 48 (A) and 72 hrs (B). Apoptotic cells were imaged using DAPI as fluorescent probes.

에서 볼 때, cisplatin과 타우린을 병용처리 하는 것은 cisplatin의 부작용을 줄이면서도 항암효과를 증가시킨다는 것을 알 수 있었다.

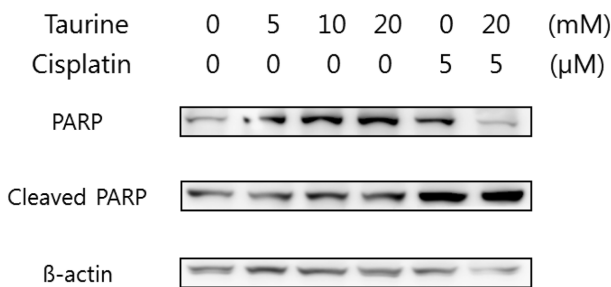
암세포의 증식이 억제되는 것은 약물 처리로 인하여 암세포에서 apoptosis가 발생되었기 때문이다. Apoptosis는 주변의 환경이나 영향으로 세포가 스스로 사멸하는 현상을 말한다.<sup>24)</sup> 항암제나 약물을 처리하여 정상세포가 아닌 암세포에서만 특이적으로 apoptosis가 발생한다면, 항암제의 부작용을 최소화 하면서 높은 항암효과를 기대할 수 있게 된다. 따라서 암세포에서만 특이적으로 apoptosis를 유발하는 것이 항암제의 개발과 항암치료 주요 목적이 되고 있다.<sup>25,26)</sup> 타우린과 cisplatin을 처리하였을 때

발생하는 apoptotic cell을 확인하기 위하여 DAPI staining을 시행하였다. DAPI는 세포 내 핵을 염색하는 형광물질로, 세포에서 apoptosis가 발생하였을 때 나타나는 DNA의 뭉침, 절편 등의 현상을 형광현미경으로 관찰할 수 있으며, 이를 통하여 세포 내 apoptosis의 발생 정도를 확인할 수 있다.<sup>27)</sup> 실험 결과 정상군에서 관찰되지 않는 apoptotic cells이 타우린을 20 mM로 처리하였을 때 약하게 증가하였다. 타우린 20 mM과 cisplatin 5 µM을 병용 처리한 경우 cisplatin을 단독 처리한 경우에 비하여 apoptotic cells이 더욱 증가했으며, 48시간보다 72시간 처리한 실험군에서 더욱 뚜렷하게 증가했다(Fig. 2). 본 실험결과를 통하여, 타우린과 cisplatin을 병용 처리하는 것이 cisplatin을 단독처리 하는 것에 비하여 apoptosis를 효과적으로 증가시킨다는 것을 확인할 수 있었다.

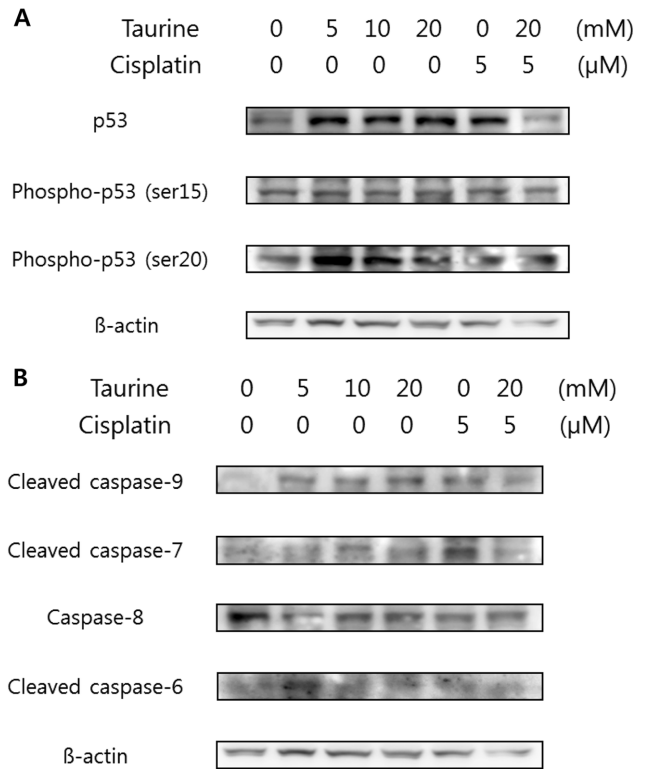
발생된 apoptosis를 다른 방법으로 확인하기 위하여 PARP의 cleavage를 측정하였다. PARP는 손상된 DNA를 복구시키는 역할을 하며, caspase에 의해 cleavage된 경우 손상된 DNA를 복구하지 못하여 결과적으로 apoptosis가 발생하게 된다. 따라서 PARP의 cleavage를 통하여 apoptosis를 확인할 수 있다.<sup>28)</sup> 타우린과 cisplatin을 병용처리 한 경우, 정상군에 비하여 PARP의 발현이 감소하였으며, cleaved PARP가 증가하였다(Fig. 3). 본 실험 결과를 통하여 타우린과 cisplatin을 병용 처리한 경우 apoptosis가 발생되었음을 알 수 있었다.

약물을 처리하면 세포내 여러 단백질들이 발현하여 apoptosis 기전이 조절된다. 타우린과 cisplatin의 병용처리가 apoptosis를 유발하는 것을 확인하였으므로, 다음 실험에서는 apoptosis와 관련된 단백질의 발현을 조사함으로써 관련 기전을 알아보았다.

우선, 세포 사멸 및 DNA repair와 관련을 가지고 있는 p53의 발현에 대하여 조사하였다. p53은 apoptosis와 밀접한 관련을 가지는 단백질이다. p53의 주요 기전은 손상된 세포를 회복시키고 세포주기 단백질의 발현을 조절하여 세포주기를 억제하거나, 미토콘드리아의 apoptosis 관련 단백질들의 활성화에 영향을 미쳐 apoptosis를 유도하기도 한다.<sup>29)</sup> 많은 암세포에서 p53이 돌연변



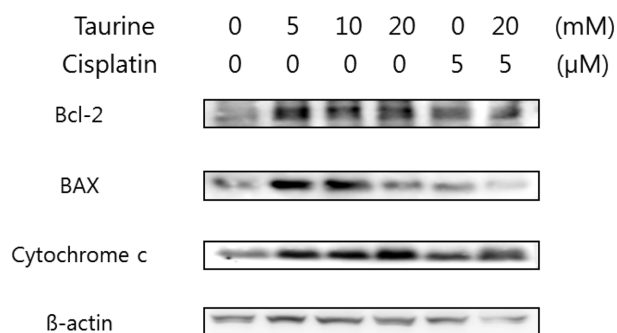
**Fig. 3** – Effects of taurine and/or cisplatin on expression of PARP and cleaved PARP. Cells were treated with cisplatin (5 µM) and taurine (5, 10, and 20 mM) for 72 hrs. Protein expressions were measured using western blotting.



**Fig. 4** – Effects of treatment of taurine and/or cisplatin on p53 expression and cleaved caspases. Cells were treated with cisplatin (5 µM) and taurine (5, 10, and 20 mM) for 72 hrs. Protein expressions were measured using western blotting.

이 된 상태로 존재하며, p53의 활성화는 암세포의 증식조절에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 따라서 p53 발현의 증가는 항암제의 기전에서 중요하다.<sup>30)</sup> 세포에 타우린이나 cisplatin을 단독처리 한 결과 p53의 발현이 정상군에 비하여 증가하였으며, Ser15에서 phosphorylation 된 p53 역시 정상군에 비하여 증가하였다. 그러나 병용처리 시 정상군에 비하여 증가하지 않았다(Fig. 4A). 본 실험 결과를 보면 타우린과 cisplatin의 단독처리에서는 apoptosis가 p53의 의존적으로 발생한다는 것을 알 수 있었으나, 병용처리 하는 경우에는 p53과 다른 기전을 통하여 apoptosis가 발생된다는 것을 확인할 수 있었다.

세포의 사멸에 밀접한 관련을 나타내는 것이 caspase이다 caspase는 세포의 손상 또는 스트레스로 인해 신호가 올 경우 cleavage가 일어나면서 활성을 가지게 되며, 활성화된 caspase는 DNA 분절화를 유발하여 결과적으로 apoptosis를 발생 시킨다.<sup>31)</sup> 실험결과 cleaved caspase-9, cleaved caspase-7, cleaved caspase-6는 타우린과 cisplatin을 병용 처리하였을 때 정상군에 비해 증가하나, 단독처리보다 감소하였다. Caspase-8은 정상군에 비하여 단독 또는 병용처리 하였을 때 모두 감소하는 경향을 나타내었으며, 이를 통하여 cleaved caspase-8이 증가하였음을 확인할 수 있다(Fig. 4B). 본 실험결과는 타우린과 cisplatin을 단독



**Fig. 5** - Effects of co-treatment of taurine with cisplatin on mitochondria dependent apoptosis-related proteins. Cells were treated with cisplatin (5  $\mu$ M) and taurine (5, 10, and 20 mM) for 72 hrs. Protein expressions were measured using western blotting.

처리 하는 경우 caspase를 통하여 apoptosis가 유발되나, 병용처리 하는 경우에는 caspase가 아닌 다른 기전을 통하여 apoptosis가 발생된다는 것을 시사한다.

다음 실험으로 Bcl-2와 BAX, 그리고 cytochrome c의 발현을 살펴보았다. Bcl-2와 BAX는 apoptosis의 유발과 밀접한 관련을 가지는 단백질로 두 단백질의 발현으로 인하여 미토콘드리아 막 전위에 영향을 주어 결과적으로 cytochrome c가 미토콘드리아로부터 방출되어 apoptosis를 유발하게 된다.<sup>32,33</sup> 타우린의 단독 처리에서 Bcl-2와 BAX의 발현이 정상군에 비하여 증가하는 양상을 나타내나, 병용처리 시 두 단백질 모두 발현이 감소하는 경향을 나타내었다. 그러나 cytochrome c의 경우 단독처리 또는 병용처리에서 모두 정상군에 비하여 증가하는 양상을 나타내었다(Fig. 5). 본 실험 결과를 통하여 apoptosis가 미토콘드리아에 의존적으로 발생하나 Bcl-2와 BAX의 발현에 의해서 조절되는 것은 아님을 알 수 있었다.

유방암 세포에 타우린과 cisplatin의 병용처리 하였을 때 단독 처리에 비하여 세포 증식이 억제되고 apoptosis가 증가하였다. 그러나 병용처리로 인해 발생한 apoptosis의 기전은 밝혀지지 않은 부분이 많으므로 차후에 연구되어야 할 것이다.

## 결 론

본 연구에서는 타우린과 항암제인 cisplatin을 인간 유방암 세포인 MCF-7에 처리하였을 때 발생하는 apoptosis와 이와 관련된 기전을 조사하였다. 타우린의 처리 농도가 증가함에 따라 세포증식이 억제되었으며, cisplatin을 단독으로 처리한 것에 비하여 타우린과 병용 처리하였을 때 세포증식이 효과적으로 억제되었다. Apoptosis의 발생을 관찰한 결과도 세포증식의 억제 결과와 유사하게 나타났다. DAPI 염색법과 PARP cleavage를 통하여 살펴본 결과에서도 정상군이나 단독 처리군에 비하여 병용 처

리한 경우에 apoptosis가 증가하였다. Apoptosis와 관련된 단백질의 발현을 조사한 결과 단독처리 시 caspase의 활성화에 의해 apoptosis가 발생하였으나, 병용처리 시에는 caspase의 활성보다는 다른 기전이 apoptosis의 발생에 관여한다고 볼 수 있다. 또한 타우린이나 cisplatin의 단독 또는 병용처리 시 모두 cytochrome c의 발현을 통하여 미토콘드리아에 의존적으로 apoptosis가 발생하였다. 실험을 통하여 타우린과 항암제를 병용처리 할 경우 항암제의 항암효과를 증가시킨다는 것을 알 수 있었다.

## 감사의 말씀

본 연구는 2010년도 동아제약(주) 연구본부의 지원에 의해 수행되었으므로 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- 1) Park, B., Choi, K. S., Lee, Y. Y., Jun, J. K. and Seo, H. G. : Cancer screening status in Korea, 2011: results from the Korean National Cancer Screening Survey. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* **4**, 1187 (2012).
- 2) Downs-Holmes, C. and Silverman, P. : Breast cancer: overview & updates. *Nurse Pract.* **36**, 20 (2011).
- 3) Cazzaniga, M. and Bonanni, B. : Breast cancer chemoprevention: old and new approaches. *J. Biomed. Biotechnol.* **985620**, (2012).
- 4) Lewis, C. : A review of the use of chemoprotectants in cancer chemotherapy. *Drug Saf.* **11**, 153 (1994).
- 5) Links, M. and Lewis, C. : Chemoprotectants: a review of their clinical pharmacology and therapeutic efficacy. *Drugs* **57**, 293 (1999).
- 6) Cipek, L., Rauko, P., Miadokov, E., Cipek, I. and Novotn, L. : Effects of flavonoids on cisplatin-induced apoptosis of HL-60 and L1210 leukemia cells. *Leuk. Res.* **27**, 65 (2003).
- 7) Tokalov, S. V., Abramyuk, A. M. and Abolmaali, N. D. : Protection of p53 wild type cells from taxol by genistein in the combined treatment of lung cancer. *Nutr. Cancer* **62**, 795 (2010).
- 8) Xu, Y., Xin, Y., Diao, Y., Lu, C., Fu, J., Luo, L. and Yin, Z. : Synergistic effects of apigenin and paclitaxel on apoptosis of cancer cells. *PLoS. One.* **6**, e29169 (2011).
- 9) Huxtable, R. J. : Physiological actions of taurine. *Physiol. Rev.* **72**, 101 (1992).
- 10) Loureno, R. and Camilo, M. E. : Taurine: a conditionally essential amino acid in humans? An overview in health and disease. *Nutr. Hosp.* **17**, 262 (2002).
- 11) Ripps, H. and Shen, W. : Review: taurine: a "very essential" amino acid. *Mol. Vis.* **18**, 2673 (2012).
- 12) Chen, X. C., Pan, Z. L., Liu, D. S. and Han, X. : Effect of taurine

- on human fetal neuron cells: proliferation and differentiation. *Adv. Exp. Med. Biol.* **442**, 397 (1998).
- 13) Hernandez-Bentez, R., Pasantes-Morales, H., Saldaa, I. T. and Ramos-Mandujano, G. : Taurine stimulates proliferation of mice embryonic cultured neural progenitor cells. *J. Neurosci. Res.* **88**, 1673 (2010).
  - 14) Shivaraj, M. C., Marcy, G., Low, G., Ryu, J. R., Zhao, X., Rosales, F. J. and Goh, E. L. : Taurine induces proliferation of neural stem cells and synapse development in the developing mouse brain. *PLoS. One.* **7**, e42935 (2012).
  - 15) Saad, S. Y. and Al-Rikabi, A. C. : Protection effects of Taurine supplementation against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Chemotherapy* **48**, 42 (2002).
  - 16) Ito, T., Muraoka, S., Takahashi, K., Fujio, Y., Schaffer, S. W. and Azuma, J. : Beneficial effect of taurine treatment against doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice. *Adv. Exp. Med. Biol.* **643**, 65 (2009).
  - 17) Das, J., Ghosh, J., Manna, P. and Sil, P. C. : Taurine protects rat testes against doxorubicin-induced oxidative stress as well as p53, Fas and caspase 12-mediated apoptosis. *Amino Acids* **42**, 1839 (2012).
  - 18) Das, J., Ghosh, J., Manna, P. and Sil, P. C. : Taurine suppresses doxorubicin-triggered oxidative stress and cardiac apoptosis in rat via up-regulation of PI3-K/Akt and inhibition of p53, p38-JNK. *Biochem. Pharmacol.* **81**, 891 (2011).
  - 19) Sadzuka, Y., Matsuura, M. and Sonobe, T. : The effect of taurine, a novel biochemical modulator, on the antitumor activity of doxorubicin. *Biol. Pharm. Bull.* **32**, 1584 (2009).
  - 20) Kim, T. and Kim, A. K. : Taurine enhances anticancer activity of Cisplatin in human cervical cancer cells. *Adv. Exp. Med. Biol.* **776**, 189 (2013).
  - 21) Hernandez-Bentez, R., Ramos-Mandujano, G. and Pasantes-Morales, H. : Taurine stimulates proliferation and promotes neurogenesis of mouse adult cultured neural stem/progenitor cells. *Stem Cell Res.* **9**, 24 (2012).
  - 22) Serova, M., Calvo, F., Lokiec, F., Koepfel, F., Poindessous, V., Larsen, A. K., Laar, E. S., Waters, S. J., Cvitkovic, E. and Raymond, E. : Characterizations of irifolven cytotoxicity in combination with cisplatin and oxaliplatin in human colon, breast, and ovarian cancer cells. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **57**, 491 (2006).
  - 23) Nonaka, M., Itamochi, H., Kawaguchi, W., Kudoh, A., Sato, S., Uegaki, K., Naniwa, J., Sato, S., Shimada, M., Oishi, T., Terakawa, N., Kigawa, J. and Harada, T. : Activation of the mitogen-activated protein kinase kinase/extracellular signal-regulated kinase pathway overcomes cisplatin resistance in ovarian carcinoma cells. *Int. J. Gynecol. Cancer* **22**, 922 (2012).
  - 24) White, B. C. and Sullivan, J. M. : Apoptosis. *Acad. Emerg. Med.* **5**, 1019 (1998).
  - 25) Johnstone, R. W., Ruefli, A. A. and Lowe, S. W. : Apoptosis: a link between cancer genetics and chemotherapy. *Cell* **108**, 153 (2002).
  - 26) Bremer, E., van Dam, G., Kroesen, B. J., de Leij, L. and Helfrich, W. : Targeted induction of apoptosis for cancer therapy: current progress and prospects. *Trends. Mol. Med.* **12**, 382 (2006).
  - 27) Kapuscinski, J. : DAPI: a DNA-specific fluorescent probe. *Biotech. Histochem.* **70**, 220 (1995).
  - 28) Hong, S. J., Dawson, T. M. and Dawson, V. L. : Nuclear and mitochondrial conversations in cell death: PARP-1 and AIF signaling. *Trends. Pharmacol. Sci.* **25**, 259 (2004).
  - 29) Maclaine, N. J. and Hupp, T. R. : The regulation of p53 by phosphorylation: a model for how distinct signals integrate into the p53 pathway. *Aging (Albany NY)* **1**, 490 (2009).
  - 30) El-Deiry, W. S. : The role of p53 in chemosensitivity and radiosensitivity. *Oncogene* **22**, 7486 (2003).
  - 31) Fan, T. J., Han, L. H., Cong, R. S. and Liang, J. : Caspase family proteases and apoptosis. *Acta. Biochim. Biophys. Sin (Shanghai)*. **37**, 719 (2005).
  - 32) Gottlieb, R. A. : Mitochondria and apoptosis. *Biol. Signals Recept.* **10**, 147 (2001).
  - 33) Martinou, J. C. and Youle, R. J. : Mitochondria in apoptosis: Bcl-2 family members and mitochondrial dynamics. *Dev. Cell* **21**, 92 (2011).