

# YD-10B에서 Cisplatin과 백작약의 병용처리에 의한 항암 효과

## Anticancer Effects of Cisplatin in Combination with *Paeonia Japonica* in YD-10B Cells

김은정

상지대학교 보건의료과학대학 임상병리학과

Eun-Jung Kim(jung0724@sangji.ac.kr)

### 요약

본 연구에서는 시스플라틴과 백작약 에틸아세테이트 분획물의 병용 처리에 의한 암세포 성장억제 및 PMA에 의해 유도된 MMP-2 및 MMP-9 압전이 억제 효과를 조사하였다. 세포생존율 측정은 MTS법에 의해 조사하였고, MMP-2/-9의 유전자발현과 활성은 RT-PCR과 Zymography법을 통하여 확인하였다. 결과에 의하면, 백작약, 시스플라틴의 농도가 증가함에 따라 세포 성장억제 효과가 증가함을 보였다. 또한, 단독 처리에 비해 200  $\mu$ M의 시스플라틴과 50  $\mu$ g/ml의 백작약 병용 처리에 의해서는 YD-10B 세포의 성장이 50% 감소하였다. PMA 처리된 YD-10B 세포에서 50  $\mu$ g/ml의 백작약과 200  $\mu$ M의 시스플라틴을 병용 처리하였을 때, MMP-2 및 MMP-9의 mRNA 발현과 단백질 활성들이 모두 유의하게 억제하였다. 그러므로 본 연구에서는 시스플라틴과 백작약의 병용 처리는 시스플라틴 단독 처리보다 구강암의 암 침윤을 억제할 수 있는 효과적인 항암제로서의 가능성을 기대할 수 있다.

■ 중심어 : 병용처리 | 시스플라틴 | 백작약 | 항암효과 | 구강암세포주 |

### Abstract

The present study investigated the anti-proliferate and anti-invasive of Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA)-induced matrix metalloproteinase (MMP-2) and MMP-9 activities of combined treatment with cisplatin and ethyl acetate fractions of *Paeonia japonica*. Cell Proliferation was detected by the MTS assay and the activity and mRNA expression of MMP-2/-9 were examined by zymography and RT-PCR. As results, cisplatin or *p. japonica* treatment of YD-10B cells resulted in a dose-dependent inhibition of cell growth. Also, the viability of YD-10B cells treated with combination of 200  $\mu$ M cisplatin and 50  $\mu$ g/ml *p. japonica* was inhibited to 50% in compared with the cisplatin alone. In PMA-treated YD-10B cells, co-treatment of 200  $\mu$ M cisplatin with 50  $\mu$ g/ml *p. japonica* significantly inhibited mRNA expression and protein activation of MMP-2/-9. Therefore, This study suggest that the combination treatment of cisplatin and *p. japonica* potentiates a promising anti-invasive agent and has more potential anti-cancer drug for oral cancer therapy than cisplatin alone.

■ keyword : Combination | Cisplatin | *Paeonia Japonica* | Anticancer | YD-10B Cells |

\* 본 연구는 2018년도 상지대학교 교내연구비 지원을 받아 수행되었습니다.

접수일자 : 2020년 05월 07일

수정일자 : 2020년 05월 27일

심사완료일 : 2020년 05월 28일

교신저자 : 김은정, e-mail : jung0724@sangji.ac.kr

## I. 서론

Cisplatin(CDDP; cis-diammineplatinum(II) dichloride)은 백금원자를 포함하고 있는 화합물로서, DNA 이중가닥 내 구아니딘(guanidine) 염기와 공유 결합하여 DNA손상을 유도하고, 결국에는 DNA복제가 억제됨으로 암세포 성장과 증식을 억제시키는 작용을 한다. 화학항암제 중에서 다양한 고형암 치료제로 50년 이상 널리 사용되어져 오고 있으며[1][2], 구강암을 치료하는데 있어서도 가장 효과적이어서 단독 또는 병용으로 가장 흔하게 사용되고 있다[3-5]. 그러나 cisplatin은 약제 내성 및 신장기능 감소 등 여러 가지 심각한 부작용이 나타나므로 이를 줄이기 위한 연구가 꾸준히 진행되고 있다[6-8].

천연물에 함유된 화합물은 항산화 효과, 항염증 효과 [9-11] 및 항암 효과등 다양한 약리활성을 나타내는 것으로 보고되고 있다[12-15]. 최근 천연물로부터 개발된 물질들이 기존 항암제에 비해 독성이 적은 안전한 화학물질로서, 항암효능을 갖고 있어 천연물에 대한 항암작용에 대한 연구가 증대되고 있다. 최근 오랫동안 한약재로 사용되어 온 백작약(*p. japonica*)이 항산화, 암전이 억제 및 암세포사멸 능력이 있음을 보고하였다[16]. 하지만 아직까지는 백작약에 대한 항암효과에 대한 연구는 부족한 실정이다.

구강암의 발병률은 전체 악성종양의 2~5%, 사망률은 전체 암의 2~3%로 보고되고 있으며, 구강암의 가장 흔한 형태는 80~90%를 차지하고 있는 구강편평세포암종(oral squamous cell carcinoma)이다[17][18]. 구강암을 치료하는 방법으로는 외과적 절제 수술, 방사선 요법, 화학항암제 요법 및 면역요법 등이 사용되어져 오고 있으며, 진행 및 전이 암에 대해서는 외과적 및 방사선 또는 화학항암제와의 병용요법을 통해 생존율을 높이고 있다[3][4][19]. 하지만 이들 치료의 가장 큰 문제점은 고형화된 종양을 치료표적으로 두고 있어 심각한 치료부작용을 초래한다는 것이며, 재발 또는 전이성 종양에 대한 치료법은 여전히 미흡한 실정이다. 그러므로 최근에는 종양치료의 한계를 극복하기 위해, 항암효과를 나타내는 천연물에 대한 관심이 증가되고 있다 [20-22]. 따라서 본 연구에서는 구강암세포주를 사용하

여 다양한 고형암 치료를 위해 많이 사용되고 있는 항암제인 cisplatin과 항암효과를 가진 백작약을 저농도로 병용 투여하여 암세포증식 및 암전이 억제 효과를 조사하고자 한다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시료 및 시약

백작약 에틸아세테이트(ethyl acetate) 분획물은 기존연구에서 사용된 동일한 시료를 사용하였다[16]. Cisplatin은 (Sigma-Aldrich, St. Louis MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

### 2. 세포배양

YD-10B 세포, human oral squamous carcinoma cells는 한국세포주은행(Korea Cell Line Bank, Seoul, Korea)에서 분양 받아 사용하였다. 세포는 RPMI-1640 (Gibco-BRL, Life technologies Inc., Grand Island, New York, USA)배지에 10% fetal bovine serum (Gibco-BRL), 1% penicillin/streptomycin (Gibco-BRL)을 첨가하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub>조건의 배양기에서 계대배양 하였다.

### 3. 세포생존율 측정

세포생존율을 조사하기 위해, cell counting kit-8 (CCK-8; Dojindo Laboratories, Kumamoto, Japan)을 이용하여 측정하였다. YD-10B 세포를 96-well plate에 well (200  $\mu$ l)당 2 × 10<sup>4</sup>개의 수로 seeding하고 12시간 동안 배양한 후, 백작약과 cisplatin을 단독 또는 병용 처리하였다. 그리고 추가적으로 37°C 배양기에서 24시간 그리고 48시간 동안 반응시킨 후, CCK-8 용액을 세포배양액에 10  $\mu$ l/well을 첨가하고 1시간 동안 37°C 배양기에서 반응하였다. 반응 후, microplate reader (Molecular Devices, Sunnydale, CA, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 4. RT-PCR

세포로부터 TRIzol 시약(Invitrogen Co., Carlsbad, CA, USA)을 사용하여 총 RNA를 추출하였다. 1 µg의 RNA를 가지고 ReverTra ACE PCR RT master mix kit (TOYOBO Co., Osaka, Japan)을 이용하여 PCR를 수행하였다. 본 실험에서는 MMP-2 (matrix metalloproteinase-2), MMP-9 (matrix metalloproteinase-9) 및 GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) primers[Table 1]을 사용하였고, housekeeping 유전자인 GAPDH 유전자를 internal control로 사용하였다. 증폭된 PCR 생성물은 ethidium bromide가 포함된 1.5% agarose gel에 전기영동 하여 UV light상에서 확인하였다.

Table 1. Primers for RT-PCR

Gene	Sequence (5'-3')	Annealing temperature	PCR product size
MMP-2	GCGACAAGAAGTATCGCTTC TGCCAAGGTCAATGTCAGGA	58°C	390bp
MMP-9	CCATTTTCGACGATGACGAGTT CTGTGCGTGTCAAAGTTCGAG	58°C	530bp
GAPDH	GAAGGTGAAGTTCGGAGT GAAGATGGTATGGGATTC	58°C	226bp

## 5. Gelatin zymography

백작약과 cisplatin을 단독 또는 병용 처리한 YD-10B (5 × 10<sup>5</sup>) 세포를 24시간 동안 배양한 후, 배지를 모아 centriprep YM-10 (Millipore, Billerica, MA, USA)을 사용하여 농축하였다. 20 µg 농도의 단백질은 non-reducing sample buffer (0.5 M Tris-Cl pH 6.8, 5% SDS, 20% glycerol, 1% bromphenol blue)와 함께 혼합하여 0.1% gelatin이 포함된 10% SDS-PAGE에서 전기영동 하였다. 전기영동 후, washing buffer (50 mM Tris-Cl, pH 7.5, 10 mM CaCl<sub>2</sub>, 2.5 % triton X-100, 1.0 uM ZnCl<sub>2</sub>)로 SDS를 제거하고 incubation buffer (50 mM Tris-Cl, pH 7.5, 10 mM CaCl<sub>2</sub>, 150 mM NaCl, 0.02 % NaN<sub>3</sub>)로 37°C에서 18시간 동안 반응하였다. Gel은 coomassie brilliant blue (7% glacial acetic acid, 40% methanol, 0.25% coomassie blue)로 1

시간 동안 염색한 후, destaining solution (7% glacial acetic acid, 40% methanol)으로 탈색하여 white band를 확인하였다.

## 6. 통계 분석

세포독성효과, RT-PCR 그리고 gelatinase 활성 분석은 Student's t-test를 실시하였다. 실험결과는 3회 반복 실험을 통하여 mean ± SD로 나타내었으며, 각 실험군 간의 통계학적 분석은 유의한 결과를 얻었다.

## III. 결과 및 토론

### 1. YD-10B세포주에서 백작약 단독 처리에 의한 생존율 분석

YD-10B 세포에서 백작약 에틸아세테이트 유기용매 분획물을 0, 25, 50 및 100 µg/ml의 다양한 농도로 처리하여 24, 48시간 동안 배양한 후, cell proliferation assay (MTS) 방법을 이용하여 세포의 생존율을 분석하였다. 대조군과 비교한 결과, 25 µg/ml에서는 108.71% 그리고 103.22%, 50 µg/ml에서는 94.14% 그리고 90.18%, 100 µg/ml에서는 68.27% 그리고 49.42%의 생존율을 보였다. 이와 같은 결과를 통해 백작약은 50 µg/ml의 농도까지는 거의 독성을 나타내지 않음을 알 수 있었다. 그리고 100 µg/ml 고농도로 처리했을 때 높은 세포성장 억제제를 나타냈다[Fig. 1].

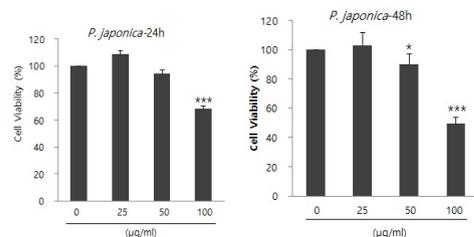


Fig. 1. *In vitro* cytotoxicity effects of *p. japonica* in YD-10B cells

The cells were treated with *p. japonica* at different concentrations for 24h and 48 h. Data represent the mean ± S.D. of three independent experiments. (\*; p<0.05 compared with untreated control, \*\*\*; p<0.001 compared with untreated control).

2. YD-10B세포주에서 cisplatin의 단독 처리에 의한 생존율 분석

YD-10B 세포에서 cisplatin을 0, 100, 200, 400 및 600  $\mu\text{M}$ 의 다양한 농도로 처리하여 24, 48시간 동안 배양한 후 세포의 생존율을 분석하였다. 대조군과 비교한 결과, 100  $\mu\text{M}$ 에서는 100.30% 그리고 93.68%, 200  $\mu\text{M}$ 에서는 88.57% 그리고 82.61%, 400  $\mu\text{M}$ 에서는 41.39% 그리고 30.74%, 600  $\mu\text{M}$ 에서는 25.77% 그리고 19.99%의 생존율을 보였다. 이와 같은 결과를 통해 cisplatin은 200  $\mu\text{M}$ 의 농도까지는 거의 독성을 나타내지 않음을 알 수 있었다. 그리고 400  $\mu\text{M}$ 과 600  $\mu\text{M}$  고농도로 24시간 또는 48시간 동안 처리한 결과에서는 높은 세포성장 억제제를 나타냈다[Fig. 2].

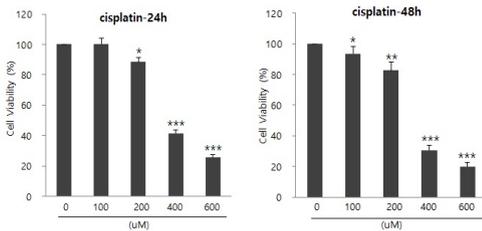


Fig. 2. *In vitro* cytotoxicity effects of cisplatin in YD-10B cells

The cells were treated with cisplatin at different concentrations for 24h and 48 h. Data represent the mean  $\pm$  S.D. of three independent experiments. (\*,  $p < 0.05$  compared with untreated control, \*\*,  $p < 0.01$  compared with untreated control, \*\*\*,  $p < 0.001$  compared with untreated control).

3. YD-10B세포주에서 백작약과 cisplatin의 병용치리에 의한 생존율 분석

YD-10B 세포에서 10%의 생존율 감소를 보이는 50  $\mu\text{g/ml}$ 의 백작약 에틸아세테이트 분획물과 100, 200, 400 그리고 600  $\mu\text{M}$ 의 cisplatin을 병용 처리하여 24, 48시간 동안 배양한 후 세포의 생존율을 조사하였다. 대조군과 비교한 결과, 100  $\mu\text{M}$  cisplatin과의 병용치리에 의해서는 75.94%와 65.86%, 200  $\mu\text{M}$  cisplatin과의 병용치리에 의해서는 53.36%와 40.72%, 400  $\mu\text{M}$  cisplatin과의 병용치리에 의해서는 27.45%와 21.45%, 그리고 600  $\mu\text{M}$  cisplatin과의 병용치리에 의해서는 27.80%와 21.16%의 생존율을 보였다. 거의 독성을 나타내지 않은 50  $\mu\text{g/ml}$  백작약과 200  $\mu\text{M}$

cisplatin을 병용 처리했을 때 대조군과 비교하여 50% 이상의 세포 생존율 감소를 보였다. 이와 같은 결과를 통하여, 병용 처리에 의한 암세포성장억제 효과가 상승하였음을 확인할 수 있었다[Fig. 3].

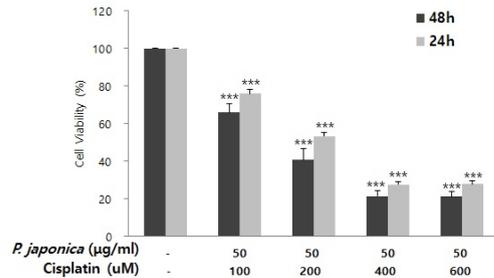
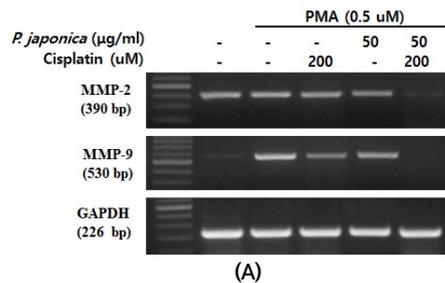


Fig. 3. *In vitro* cytotoxicity effects of cisplatin in combination with *p. japonica* in YD-10B cells

The cells were treated with 50  $\mu\text{g/ml}$  *p. japonica* and cisplatin at different concentrations for 24h and 48 h. Data represent the mean  $\pm$  S.D. of three independent experiments. (\*\*\*,  $p < 0.001$  compared with untreated control).

4. YD-10B세포주에서 백작약과 cisplatin의 단독 또는 병용 처리에 의한 MMP-2와 MMP-9의 유전자 발현을 통한 암전이 억제 효과

YD-10B 세포에서 50  $\mu\text{g/ml}$  농도의 백작약 에틸아세테이트 분획물과 200  $\mu\text{M}$  농도의 cisplatin을 단독 또는 병용 처리하여 MMP-2 및 MMP-9의 유전자 발현을 확인하였다. 대조군과 비교한 결과, cisplatin 단독 처리에서는 9.4%와 45.0%, 백작약 단독처리에서는 16.9%와 13.5%, cisplatin과 백작약의 병용치리에서는 85.8%와 97.0%로 뚜렷한 유전자 발현억제를 나타냈다[Fig. 4].



(A)

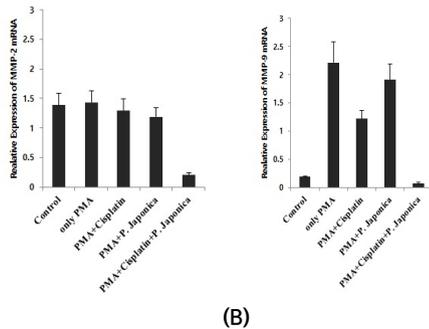


Fig. 4. Effect of cisplatin in combination with *p. japonica* on mRNA expression of MMP-2/9 in PMA-treated YD-10B cells

YD-10B cells were treated with the indicated concentration of cisplatin or *p. japonica* 2 hours prior to PMA (0.5  $\mu$ M) stimulation. (A) 24 hours later, the levels of MMP-2/9 mRNA were determined by RT-PCR. GAPDH were used as the internal control. (B) The relative expressions of MMP-2/9 mRNA were analyzed the band intensity using a GelQuant.NET program.

### 5. YD-10B세포주에서 백작약과 cisplatin의 단독 또는 병용 처리에 의한 MMP-2와 MMP-9의 단백질 활성을 통한 암전이 억제 효과

YD-10B 세포에서 백작약과 cisplatin의 병용처리에 의한 암 침윤 및 MMPs 활성에 미치는 효과를 조사하기 위하여, 50  $\mu$ g/ml 농도의 백작약 에틸아세테이트 분획물과 200  $\mu$ M 농도의 cisplatin을 단독 또는 병용 처리하여 YD-10B세포를 혈청 없는 배지에서 배양하였다. 그리고 24시간 동안 배양한 후, 배지의 상층액을 gelatin zymography법을 통해 MMP-2 및 MMP-9 단백질의 활성을 분석하였다. MMP-9 활성억제 효과는 대조군과 비교한 결과, cisplatin 단독처리에서는 43.1%, 백작약 단독처리에서는 7.5%, cisplatin과 백작약의 병용처리에서는 74.7%를 보였다. 그리고 MMP-2의 활성억제 효과를 대조군과 비교한 결과, cisplatin 단독처리에서는 변화가 없었고, 백작약 단독처리에서는 17.1%, cisplatin과 백작약의 병용처리에서는 49.3%를 나타냈다. 이러한 결과를 통하여 아무것도 처리하지 않은 세포에 비해, 병용 처리한 세포에서는 MMP-9과 MMP-2 단백질 활성이 크게 감소하였으며 무엇보다 MMP-9 단백질 활성에 대한 억제 효과가 가장 뚜렷함을 확인할 수 있었다[Fig. 5].

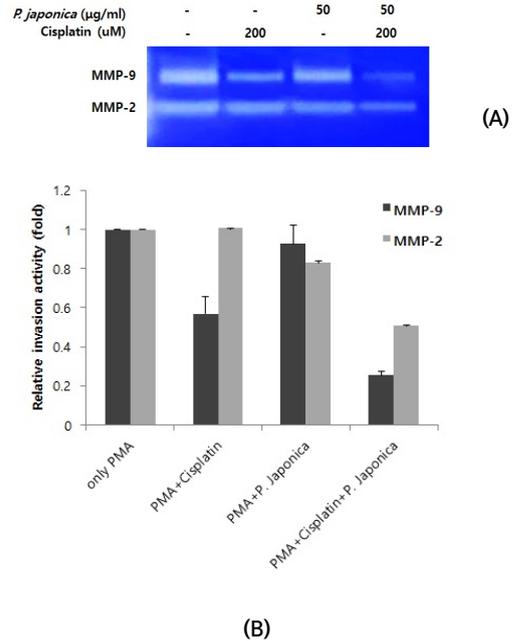


Fig. 5. Effect of cisplatin in combination with *p. japonica* on the activities of MMP-2/9 in PMA-treated YD-10B cells

YD-10B cells were treated with the indicated concentration of cisplatin or *p. japonica* 2 hours prior to PMA (0.5  $\mu$ M) stimulation. (A) 24 hours later, the activities of MMP-2/9 protein in the conditioned media were determined by gelatin zymography. (B) The relative expressions of MMP-2/9 protein were analyzed the band intensity using a GelQuant.NET program.

## IV. 결론

Cisplatin은 화학항암제 중에서도 구강암, 난소암, 폐암, 간암, 대장암, 전립선암 및 유방암등의 다양한 고형암 치료제로 가장 많이 사용되고 있다. 그러나 항암제 내성 및 독성 부작용의 증가로 여전히 문제가 되고 있다. 이와 같은 항암제 내성 및 독성 부작용들을 극복하기 위해 cisplatin과 함께 천연물을 병용 투여하는 연구가 꾸준히 진행되고 있다. 최근의 연구에 의하면, Hederagenin은 cisplatin에 내성을 가지는 두경부편평세포암 세포주에서 Nrf2-ARF경로 억제를 통해 apoptosis가 유도되었고[23], Epigallocatechin gallate(EGCG)은 cisplatin에 내성을 가지는 CAR 구강암세포주에서 AKT/STAT경로를 활성화하여 apoptosis와 autophagy를 유발하였다[24]. crocetin

과 cisplatin의 병용은 KYSE-150 세포주에서 p53/p21 경로를 통하여 cisplatin의 효과를 높였다 [25].

본 연구에서는 백작약 에틸아세테이트 분획물과 cisplatin의 YD-10B 구강암세포주에서의 단독 및 병용처리에 의한 암세포 성장억제와 암전이 억제능력을 확인하였다. 백작약과 cisplatin의 병용처리는 50%이상의 높은 암세포성장억제 효과를 나타냈으며 또한, YD-10B에서 PMA 처리에 의해 증가된 MMP-2 및 MMP-9의 유전자발현 및 단백질 활성들이 높은 암전이 억제 활성을 나타냈다. 이와 같은 연구 결과를 바탕으로 cisplatin과 백작약의 병용처리는 구강암 세포에서 cisplatin에 대한 항암효과를 증진시킴을 알 수 있었으며, cisplatin과 백작약 에틸아세테이트분획물의 병용치료는 cisplatin의 효과를 극대화하여 적은 용량의 cisplatin에서도 약물내성과 부작용을 감소시킬 수 있을 것으로 기대된다. 하지만 이들 효과에 대한 전임상의 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

#### 참 고 문 헌

- [1] X. Chen, Y. Wu, C. Y. Zhang, and Y. Zhang, "Platinum based agents for individualized cancer treatment," *Curr. Mol. Med.*, Vol.13, pp.1603-1612, 2013.
- [2] S. Dilruba and G. V. Kalayda, "Platinum based drugs: past, present and future," *Cancer chemother. Pahrmacol.*, Vol.7, pp.1103-1124, 2016.
- [3] N. Toshiki, O. Akinobu, O. Takayuki, K. Hiroyuki, F. Akifumi, O. Yukinobu, Y. Yoichi, H. Yoshitaka, and K. Yoshiaki, "Combined arsenic trioxide-cisplatin treatment enhances apoptosis in oral squamous cell carcinoma cells," *Cell Oncol*, Vol.37, pp.119-129, 2014.
- [4] L. Xin, G. Shu, X. K. Xiong, B. Y. Peng, J. M. Huang, M. F. Cehn, and F. Y. Wang, "Combination of quercetin and cisplatin enhances apoptosis in OSCC cells by downregulating xIAP through the NF-kB pathway," *J. Cancer*, Vol.10, pp.4509-4521, 2019.
- [5] 서종천, 성일용, 김종렬 "구강편평세포암종에서의 cisplatin 유도 아포토시스에서의 NF-kB의 활성화," *대구외지*, Vol.32, pp.94-100, 2006.
- [6] L. Kelland, "The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy," *Nat. Rev. Cancer*, Vol.7, pp.573-584, 2007.
- [7] K. Tao, Y. Yin, Q. Shen, Y. Chen, R. Li, and W. Chang, "Akt inhibitor MK-2206 enhances the effect of cisplatin in gastric cancer cells," *Biomed Rep.*, Vol.4, pp.365-368, 2016.
- [8] P. Baharuddin, N. Satar, K. S. Fakiruddin, N. Zakaria, M. N. Lim, and N. M. Yusoff, "Curcumin improves the efficacy of cisplatin by targeting cancer stem like cells through p21 and cyclinD1-mediated tumor cell inhibition in non-small cell lung cancer cell lines," *Oncol Rep.*, Vol.35, pp.13-25, 2016.
- [9] P. Ciganovic, K. Jakimiuk, M. Tomczyk, and M. K. Zovko, "Glycerolic Licorice Extracts as Active Cosmeceutical Ingredients: Extraction Optimization, Chemical Characterization, and Biological Activity," *Antioxidants*, Vol.8, pp.445-459, 2019.
- [10] A. B. Kocka, N. Vorobets, M. Chrzęszcz, W. Pietrzak, and K. Szewczyk, "Polyphenol Composition of Extracts of the Fruits of *Laserpitium Krapffii* Crantz and Their Antioxidant and Cytotoxic Activity," *Antioxidants*, Vol.8, pp.363-382, 2019.
- [11] L. Bordoni, D. Fedeli, C. Nasuti, F. Maggi, F. Papa, M. Wabitsch, R. D. Caterina, and R. Gabbianelli, "Antioxidant and anti-inflammatory properties of nigella sativa oil in human pre-adipocytes," *Antioxidants*, Vol.8, pp.51-63, 2019.
- [12] H. R. Park, E. J. Ju, S. K. Jo, U. Jung, S. H. Kim, and S. T. Yee, "Enhanced antitumor efficacy of cisplatin in combination with HemoHIM in tumor-bearing mice," *BMC Cancer*, Vol.9, pp.85-90, 2009.
- [13] J. K. Kim and H. O. Yang, "The cytotoxic

- effect of chaga mushroom water extract on HepG2 hepatoma cells," *J. Exp. Biomed Sci.*, Vol.17, pp.253-260, 2011.
- [14] 김태희, 김안근, "MCF-7에서 Cisplatin과 타우린의 병용치리로 인한 항암효과 및 관련 기전," *약학회지*, Vol.57, pp.18-23, 2013.
- [15] H. Song, L. Xiaolin, X. Rongrong, Y. Lingyun, K. Hui, Z. Xiaoning, W. Hong, and X. Weiping, "The synergistic effect of resveratrol in combination with cisplatin on apoptosis via modulating autophagy in A549 cells," *Acta. Biochim. Biophys. Sin.*, Vol.48, pp.528-535, 2016.
- [16] E. J. Kim and J. H. kim, "Evaluation of Anti-oxidative, Anti-thrombin, Anti-invasive and Pro-apoptotic Activities of *Paeonia japonica*," *Korean. J. Plant. Res.*, Vol.31, pp.16-23, 2018.
- [17] O. Kujan, A. M. Glenny, J. Duxbury, N. Thakker, and P. Sloan, "Evaluation of screening strategies for improving oral cancer mortality: a Cochrane systematic review," *J. Dent. Educ.*, Vol.69, pp.255-265, 2005.
- [18] L. Muzio, A. Santarelli, V. Panzarella, G. Campisi, M. Carella, D. Ciavarella, M. Cosola, N. Giannone, and A. Bascones, "Oral squamous cell carcinoma and biological markers: an update on the molecules mainly involved in oral carcinogenesis," *Minerva. Stomatol.*, Vol.56, pp.341-347, 2007.
- [19] C. Klug, D. Berzaczy, M. Voracek, and W. Millesi, "Preoperative chemoradiotherapy in the management of oral cancer," *J. Craniomaxillofac. Surg.*, Vol.36, pp.75-88, 2008.
- [20] C. Y. Ng, H. Yen, H. Y. Hsiao, and S. G. Su, "Phytochemicals in skin cancer prevention and treatment: an updated review," *int. J. Mol. Sci.*, Vol.19, pp.941-965, 2018.
- [21] C. Y. Sun, Q. Y. Zhang, G. J. Zheng, and B. Feng, "Phytochemicals: current strategy to sensitize cancer cells to cisplatin," *Biomed Pharmacother.*, Vol.110, pp.518-527, 2019.
- [22] Y. Yang, Q. Zhang, Y. Chen, C. L. Liang, H. Liu, and F. Qiu, "Antitumor effects of immunity enhancing traditional chinese medicine," *Biomed Pharmacother.*, Vol.121, pp.1-9, 2020.
- [23] E. H. Kim, S. Baek, D. Shin, J. Lee, and J. L. Roh, "Hederagenin induces apoptosis in cisplatin-resistant head and neck cancer cells by inhibiting the Nrf2-ARE antioxidant pathway," *Oxid. med. Cell. Longev.*, Vol.2017, pp.1-12, 2017.
- [24] C. H. Yuan, C. T. Horng, C. F. Lee, N. N. Chiang, F. J. Tsai, C. C. Lu, J. H. Chiang, Y. M. Hsu, J. S. Yang, and F. A. Chen, "Epigallocatechin gallate sensitizes cisplatin-resistant oral cancer CAR cells apoptosis and autophagy through stimulating AKT/STAT3 pathway and suppressing multig\drug resistance 1 signaling," *Environ Toxicol.*, Vol.32, pp.845-855, 2017.
- [25] S. Li, X. Y. Shen, T. ouyang, Y. Qu, T. Luo, and H. Q. Wang, "Synergistic anticancer effect of combined crocetin and cisplatin on KYSE-150 cells via p53/p21 pathway," *Cancer Cell int.*, Vol.17, pp.1-18, 2017.

#### 저 자 소 개

김 은 정(Eun-Jung Kim)

정희원



- 1996년 2월 : 연세대학교 임상병리학(보건학사)
- 2000년 8월 : 고려대학교 생명공학원 분자생물학(이학석사)
- 2009년 8월 : 연세대학교 응용생명과학과 종양생물학 및 병리학(이학박사)
- 2014년 4월 ~ 현재 : 상지대학교 임상병리학과 교수  
<관심분야> : 종양생물학, 분자진단학, 병리학