

두충의 인체 암세포 증식억제 효과 연구

황 우 익
고려대학교 의과대학

A Study on the Growth Inhibition of Human Colon Cancer Cells by Eucommial Leaf Extract

Woo-Ik Hwang

Dept. of Biochemistry, College of Medicine, Korea University, Seoul, Korea

ABSTRACT

This study was divided to observe the inhibitory effect of growth rate of human colon cancer cells by Eucommial leaf extract, *in vitro*.

Three species of human colon cancer cells, HRT-18, HCT-48 and HT-29, were used for the experiment.

Each extract of Eucommial leaf was prepared by extraction with water, 95% alcohol, acetone, chloroform and petroleum ether, and then the inhibitory effect of each extract on the growth rate of cells was compared with control group and each other.

The experimental results obtained are summarized as follows :

1. Inhibitory effects on growth rate of human colon cancer cells were strongest in the petroleum ether extract and next in the chloroform extract.
2. Inhibitory effects on the growth rate of the cancer cells by extracts of water, 95% alcohol and acetone were weaker than that of petroleum ether and chloroform.
3. Inhibitory effect of each extract on the cancer cell growth was shown most strong activity in HT-29, and was in order of HRT-18 and HCT-48.

In view of the results, it could be suggested that inhibitory effects of non-polar solvent's extracts against the cancer cell growth were more stronger than that of polar solvents and the effects were indicated difference according to the species of the cells.

서 론

암 치료는 현대의학이 당면한 가장 큰 과제의 하나로 되어 있다. 현재 임상에서 쓰이는 항암제의 대부분은 합성약품들이다. 그러나 그 중에는 세계 각지에서 민간요법으로 쓰이던 생약 *vinca rose linn* (헝죽 도과에 속하는 관목)에서 추출한 알칼로이드 *vinblastin*¹⁾도 있다. 따라서 앞으로 생약에서 좋은 항암제가 개발될 가능성도 있다고 본다.

특히 우리 나라는 고려시대의 *本草學*²⁾을 비롯하여 이조시대에 *東醫寶鑑*³⁾ 등의 명서가 나와 이들 책에 의한

처방으로 한방에서 국산 생약제(약초)를 종양성 질환의 치료제로 사용하여 온 역사가 깊다. 그리고 현재도 한약이 암 환자에게 많이 사용되고 있는 실정이다.

이와 관련하여 홍^{4,5)}과 차¹⁾ 등은 각각 한방 처방의 통계학적 연구와 항암 및 항세균 생약의 통계학적 연구에서 293종의 생약에 대하여 한방의 처방별 통계를 자세히 제시하고 한방에서 항암 및 항세균제로서 가장 많이 처방되어 온 생약의 종류를 밝힌 바 있다.

두충에 대하여는 Dybowski⁶⁾, Sievers⁷⁾ 및 Schidrowitz⁸⁾ 등에 의하여 *guttapercha*, *gum* 및 *caoutchous*, *resin* 등이 함유되어 있다는 보고가 있고 약효

로서는 민간요법에서 지혈, 혈압강하, 강장 등 치료⁹⁻¹¹⁾에 효과적이라고 알려져 있다. 그러나 현대과학적인 방법에 의한 연구 보고는 희유하다.

저자는 수종 한국산 생약제의 항암성을 선별 시험한 바 있는데¹²⁻¹⁶⁾ 그중 두충도 동물암 세포에 대하여 증식 억제효과가 있음을 구명 보고¹⁷⁾한 바 있다.

이를 근거로 하여 본 연구에서는 수종 인체 장암 세포에 대한 두충 추출물의 항암성을 구명하고자 계획하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험재료

1) 두 충

본 실험에 사용한 한국산 두충잎은 강원도 청평에서 재배하는 두충나무의 잎을 모아 건조한 것을 분말화한 것이었다.

2) 암세포

본 실험에 사용한 암세포는 인체 직장 암세포인 HRT-18 과 인체 결장 암세포인 HCT-48 및 HT-29으로서 이들 암세포는 미국 California 대학 Kim, Y. S. 교수로부터 분양받아 본 연구실에서 배양한 것이다.

3) 시약 및 기구

암세포 배양용 배양액과 혈청 및 trypsin은 모두 GIBCO(Grand Island Biological Company) 제품인 DMEM(Dulbeco's Modified Eagle Medium), Fetal Bovine Serum 및 trypsin-EDTA을 구입하여 사용하였다.

한편 암세포 배양용 petri dish 및 T-75 flask는 멸균 처리된 1회용 Nunc 제품을 사용하였고 millipore filter discs 및 그 부속품은 millipore corp. 제품을 사용하였다. 그리고 암세포 배양용 항온기, 세포수 측정기 및 현미경은 각각 NAPCO제의 CO₂ incubator, coulter counter model ZB₁ 및 inverted microscope등을 사용하였다.

기타 유기용매는 일제 및 Merk제 특급시약을, 일반 초자기구는 pyrex제를 사용하였다.

2. 실험방법

1) 암세포 배양 및 doubling time 측정

인체 장암 세포인 HRT-18, HCT-48 및 HT-29 등은 5% fetal bovine serum 및 항생제(penicillin 100 units/ml, streptomycin 100 µg/ml)를 첨가한 DMEM을 배양액으로 하여 T-75 flask 또는 35 mm petri dish에 이식시킨 후 CO₂ incubator(CO₂ 5% 유지)에서 monolyer로 배양하였다. 그리고 이들 stock line의 암세포는 약 일주일 간격으로 0.05% trypsin-0.02% EDTA(Ca²⁺, Mg²⁺이 없는 phosphate buffered saline에 녹인 것)으로 분리시켜 새 배양액에 교대 이식시켰다.

이들 암세포의 doubling time은 각 암세포를 약 3 내지 4 × 10⁴ cells/dish가 되도록 35-mm petri dish에 이식시킨 후 dish에 부착 증식되는 암세포를 24시간 간격으로 trypsin을 처리하여 분리한 후 coulter counter로 각 dish의 세포수를 측정하고 이를 semilogarithmic paper에 도시하여 그 증식 곡선으로부터 doubling time을 산출하였다.

2) 두충 성분의 추출

두충 성분의 추출은 각각 극성을 달리 하는 5종의 용매 즉 물, 알콜, 아세톤, 클로르폼 및 석유에테르 등을 사용하여 실시하였다.

물 추출물은 분말화된 두충잎 6g을 증류수에 넣고 90 내지 100 °C에서 6시간 추출한 후 여과하여 최종 부피가 100 ml 되도록 만들었다. 그리고 이중 일정량(10 ml)을 취하여 건조시켜 추출액 ml당 건조중량을 측정하고 실험에 사용시 건조중량을 기준하였다.

알콜 추출물은 두충잎 분말 6g을 알콜에 넣고 60 °C 수조에서 8시간 추출한 후 여과하고 물 추출물과 같이 건조중량을 측정하였다.

아세톤, 클로르폼 및 석유에테르 추출물은 두충잎 시료 6g씩을 취하여 해당용매로 soxhlet 장치에서(70 °C)16시간 추출하였다. 이 추출액은 rotary vacuum evaporator를 이용하여 증발 건조시키고 실험에 사용시에는 일정량을 소량의 무수 알콜에 녹여 건조중량을 기준해서 농도별로 첨가하였다. 이때 이들 추출물은 모두 멸균된 millipore filter disc로 여과 제균한 후 암세

포 배양액에 첨가 시험하였다.

3) 두충 성분에 의한 인체 암세포 증식 억제 효과 측정

암세포 배양액에 두충 성분을 투여하여 암세포 증식 억제 효과를 측정하는 방법은 다음과 같다. T-75 flask에서 배양한 HRT-18, HT-29 및 HCT-48 등 암세포를 trypsin처리하여 분리한 후 배양액으로 희석하고 35 mm petri dish 에 각 3ml씩 분배 이식시킨 후 24 내지 48시간 배양하였다. 그리하여 각 암세포가 각 dish에 부착 증식되어 세포수가 약 $4 \sim 5 \times 10^4$ cells /dish 되었을 때 dish내의 배양액을 제거하고 각종 두충 추출성분이 농도별로 함유된 배양액으로 교체시킨다. 그리고 다시 24 내지 48시간 배양하면서 일정시간에 각 dish에서 증식된 암세포를 trypsin 처리하여 분리하고 0.9% NaCl로 희석하여 coulter counter로 각 군의 세포수를 측정하였다.

이때 대조군은 실험군에서 두충 추출액 첨가량에 해당되는 용량을 증류수 또는 무수알콜(0.2% 미만)을 첨가하여 동일한 조건하에서 배양하였다. 그리고 대조군의 세포수를 기준하여 두충 추출물 첨가 배양군들의 세포수를 비교하였다.

이때 각 추출물의 활성 단위는 각 암세포의 doubling time을 2배로 연장시킨 암세포 배양액 ml당 함유된 각 추출물의 건조 중량(mg)을 1 unit로 정하였다.

실험성적

1. 각 암세포의 doubling time

본 실험에 사용한 인체 장암 세포인 HRT-18, HCT-48 및 HT-29 등의 증식 곡선은 Fig. 1에서 보는 바와 같고 각 암세포의 doubling time은 18, 24 및 20 시간이 되었다.

2. HRT-18 암세포에 대한 두충 추출물의 증식억제 효과

인체 장암 세포의 일종인 HRT-18에 대한 물, 알콜, 아세톤, 클로르폼 및 석유에테르에 의한 두충 추출물들의 증식 억제 효과는 Fig. 2와 같다.

즉 두충의 각 추출물을 HRT-18 암세포 배양액에 농

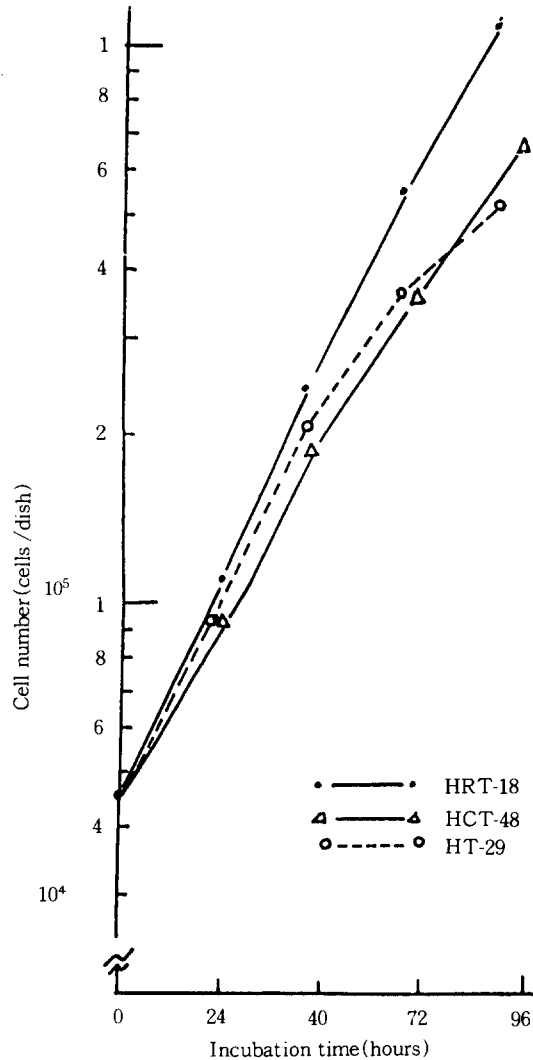


Fig. 1. Growth curves of HRT-18, HCT-48 and HT-29 cells in vitro

도별로 첨가하고 42시간 배양한 후 각 군별 세포수를 측정하는 바 석유에테르 추출물 첨가군에서 암세포 증식이 가장 많이 억제되었고 다음이 클로르폼 추출물, 물 추출물, 아세톤 추출물 및 알콜 추출물 등의 순위였다.

이 성적을 활성별로 비교하면 Table 1에서 보는 바와 같이 석유에테르 추출물은 mg당 6.67 units이었고 클로르폼 추출물은 4.00 units, 물 추출물은 2.00 units, 아세톤 추출물은 1.37 units 그리고 95% 알콜 추출물

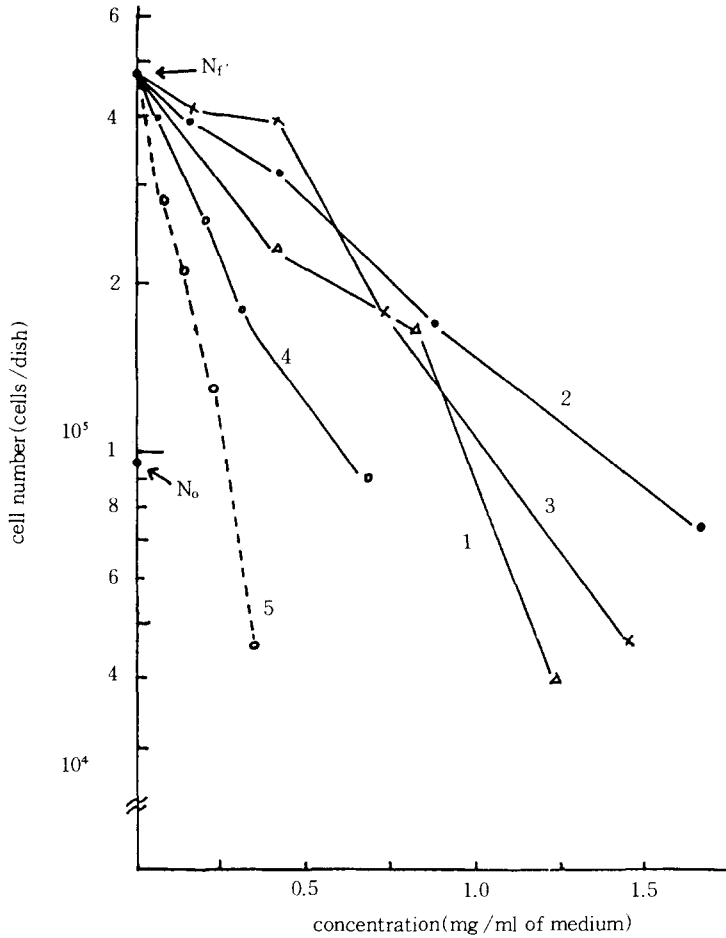


Fig. 2. Dose response curves of each extract of Eucommial leaf on the growth of HRT-18 cells after 42 hours of incubation.

- 1. Water extract 2. Ethanol extract 3. Acetone extract 4. Chloroform extract 5. Petroleum ether extract
- N₀ : initial cell number
- N_f : final cell number

은 1.22units가 되어 석유에테르 추출물의 활성이 가장 강하였음을 알 수 있다.

3. HCT-48 암세포에 대한 두충 추출물의 증식억제 효과

인체 장암 세포의 일종인 HCT-48에 대한 물, 알콜, 아세톤, 클로르폼 및 석유에테르에 용출된 두충성분의

증식억제 효과는 Fig. 3과 Table 1에서 보는 바와 같다.

즉 HRT-18 암세포에 대하여 실행한 바와 같은 조건으로 두충의 각 추출물의 암세포(HCT-48)증식억제효과를 측정할 때 석유에테르 추출물 첨가군이 가장 강하였고 다음이 클로르폼 추출물, 물 추출물, 아세톤 추출물 및 알콜 추출물 순위로 HRT-18 암세포에서와 똑같

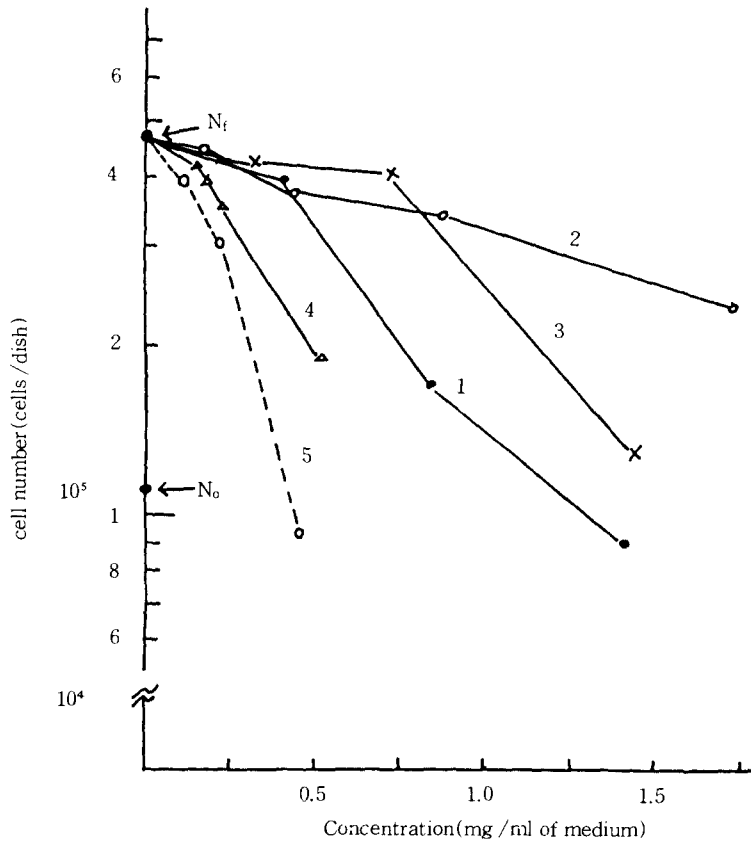


Fig. 3. Dose response curves of each extract of Eucommial leaf on the growth of HCT-48 cells after 42 hours of incubation.

1-5, N₀, N_f : See Fig. 2.

Table 1. Comparison of dry weight and activity (Unit) of Eucommiae leaf components extracted by various solvents

Kinds of solvent	Cytotoxic activity Cell lines	Dried weight per 1 unit of activity (mg/ml of medium)			Specific activity (units/mg of extract)		
		HRT-18	HCT-48	HT-29	HRT-18	HCT-48	HT-29
Water		0.50	0.67	0.89	2.00	1.49	1.12
95% Ethanol		0.82	1.75	0.70	1.22	0.57	1.42
Acetone		0.73	1.06	0.62	1.37	0.94	1.61
Chloroform		0.25	0.44	0.21	4.00	2.37	4.76
Petroleum ether		0.15	0.28	0.12	6.67	3.57	8.33

One unit : The amount of drug in one ml. of culture medium causes a two fold increase in the doubling time of cancer cell after 42 hours of incubation

은 경향을 보였다. 그러나 활성별로 비교하면 (Table 1) 석유에테르 추출물은 mg당 3.57units, 클로르폼 추출물은 2.37units, 물 추출물은 1.49units, 아세톤 추출물은 0.94units 및 95% 알콜 추출물은 0.57units가 되었다. 따라서 HCT-48 암세포에 대한 각 용매별 두층 추출물의 증식 억제 경향은 HRT-18 암세포에서와 같았으나 각 추출물의 mg당 활성은 HRT-18의 경우에 비하여 25% 내지 53%가 낮았다.

4. HT-29 암세포에 대한 두층 추출물의 증식 억제 효과

인체 장암 세포의 일종인 HT-29에 대한 물, 알콜, 아세톤, 클로르폼 및 석유에테르에 용출된 두층 성분의 증식 억제 효과는 Fig. 4와 Table 1에 표시한 바와 같다.

즉 HRT-18 및 HCT-48 등 암세포에 대하여 실시한 바와 같은 조건으로 각 용매별 두층 추출물의 증식 억제 효과를 측정한 바 석유에테르 추출물 첨가군에서 가장 강하였고 다음이 클로르폼 추출물, 아세톤 추출물, 알콜 추출물 및 물 추출물 등의 순위였다.

이 성적을 활성별로 비교하면 Table 1에서 보는 바와 같이 석유에테르, 클로르폼, 아세톤, 95% 알콜 및 물 등 각 용매별 추출물이 각각 8.33, 4.76, 1.61, 1.42 및 1.12units가 되었다.

따라서 각 용매별 두층 추출물의 HT-29 암세포에 대한 활성이 HCT-48 또는 HRT-18에 대한 활성보다 강하였음을 알 수 있다.

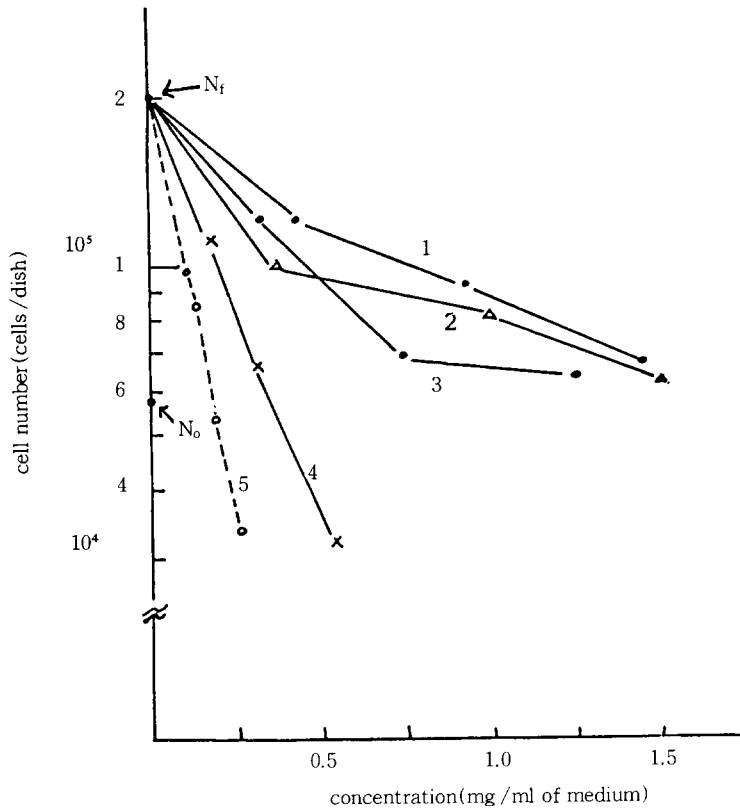


Fig. 4. Dose response curves of each extract of Eucommial leaf on the growth of Ht-29 cells after 42 hours of incubation.

1-5, N_0 , N_f : See Fig. 2.

총괄 및 고찰

최근 유효한 함암제 개발 및 암에 대한 연구는 의학 및 과학계에 지대한 관심사로서 이에 관련된 논문¹⁸⁻²²⁾도 많이 나왔다. 그러나 암 발생의 원인이나 기전에 대하여는 아직도 상세히 구명되지 못한 상태에 있으므로 앞으로 더 많은 연구실험이 요청된다고 하겠다.

저자는 전보¹⁷⁾에서 한국산 생약제 중 두충 추출물이 동물암세포의 증식을 억제시킴을 구명 보고한 바 있어 이에 관심을 갖고 본 실험에서는 인체 암세포인 HRT-18, HCT-48 및 HT-29 등을 대상으로 각종 용매에 용출되는 두충 성분의 항암성 활성을 구명하고자 계획하였다.

본 연구에서 인체 장암세포를 대상으로 하였음은 전보¹⁷⁾에서 이미 동물성 암세포 즉 흰 생쥐의 백혈병성 임파모세포인 L₁₂₁₀을 대상으로 뜻있는 성적을 얻었으므로 더나가 인체 암세포에 대한 영향을 검토하고자 한 것이다.

즉 어떤 약제의 항암성 선별 실험에 있어서 어떤 암세포에서 증식을 억제하는 활성이 있다해도 다른 암세포를 대상으로 하면 활성이 없을 수도 있으며, 또한 *in vitro* 실험에서 활성이 있다 해도 *in vivo* 실험에서 활성이 없을 수도 있으므로 여러 암세포에 대하여, 그리고 *in vitro* 및 *in vivo* 등 광범위한 실험에서 유효한 성적을 얻는 것이 필요한 것이다.

이제 본 실험성적을 고찰하면 본 실험에 사용한 인체 장암세포의 일종인 HRT-18, HCT-48 및 HT-29의 증식곡선은 Fig. 1과 같고 doubling time은 각각 18, 24 및 20시간이었다.

이들 암세포는 미국 캘리포니아 대학교 Kim, Y. S 교수로부터 분양 받은 것인데 Taso와 Kim²³⁾ 등의 보고서에 밝힌 doubling time과 일치되는 것으로 보아 아무 이상없이 정상적으로 증식되고 있었음을 알 수 있다. 만일 증식에 이상이 있었다면 Chu와 Fischer²⁴⁾ 등이 보고한 바와 같이 doubling time이 단축 또는 연장되는 변동이 생겼을 것이기 때문이다.

다음 HRT-18 암세포 증식에 미치는 각 용매에 용출된 두충 성분의 영향을 보면(Fig. 2) 암세포 배양액중 각 추출물의 농도가 증가함에 따라 비례적으로 암세포

의 증식이 억제되었고 어느 농도 이상에서는 출발시 세포수보다도 감소되었음을 알 수 있다.

이제 각종 항암제의 암세포 사멸작용²⁵⁾의 유형을 보면

첫째, 그 약제의 농도에 의존되는 경우,

둘째, 작용시간에 의존하는 경우,

셋째, 농도와 작용시간에 동시 의존성 등으로 나눌 수 있겠다.

이와 같은 기준에 비교할 때 본 실험성적은 작용시간에 따른 영향에 대하여는 실험하지 않아 알 수 없으나 농도에 의존성임은 확실하다고 하겠다. 그러나 전보¹⁷⁾의 동물암세포에서 얻은 성적에서는 농도와 작용시간의 동시 의존성으로 나타났다. 그러므로 두충 성분은 *in vitro* 실험에서 농도와 작용시간을 잘 조절하면 동물암세포나 인체 암세포의 증식을 효율적으로 정지시키거나 사멸시킬 수 있는 약제가 될 가능성이 있을 것으로 예견된다.

그런데 각 용매별 두충 추출물 간에 활성의 차이(Table 1) 즉 추출물 mg당 활성이 석유에테르 추출물에서 6.67로 가장 높고 다음이 클로르폼 추출물이고, 아세톤, 95% 알콜 및 물 추출물에서는 낮은 것으로 보아 비극성 용매에 잘 용출되는 성분(지용성 성분)중에 활성 성분이 많은 것으로 사료된다.

그러므로 앞으로 두충에서 지용성 성분을 추출 정제하여 각종 암세포에 대한 항암성의 선별 시험을 하면 전보¹⁷⁾나 본 실험에서 얻은 활성보다 더 유효한 활성을 얻게 되리라 믿는다.

다음 HCT-48와 HT-29 암세포 증식에 미치는 각 용매별 두충 추출물의 영향을 보면(Fig. 3과 4) HRT-18 암세포에서와 같이 배양액중 각 추출물의 농도가 증가함에 따라 비례적으로 암세포의 증식이 억제되었고 추출물 mg당 활성은 석유에테르 추출물이 제일 강하였고 다음이 클로르폼 추출물이었으며 아세톤, 알콜 및 물 추출물은 낮았다.

따라서 두충의 석유에테르 추출물과 클로르폼 추출물이 3종의 인체 장암세포(HRT-18, HCT-48 및 HT-29) 모두에 대하여 증식 억제효과가 있음을 알 수 있다.

그런데 주목되는 점은 같은 추출물이라 할지라도 암세포 종류에 따라 활성의 차이(Table 1)를 나타낸 현

상이다. 즉 두층의 석유에테르 추출물 mg당 활성이 HT-29에서는 8.33, HRT-18에서 6.67 그리고 HCT-48에서 3.57이었고 이와 같은 활성 차이의 경향은 클로르폼추출물에서도 일치하여 HT-29에서 가장 강하였고 다음이 HRT-18, HCT-48 등의 순위였다.

이와 같은 현상은 본 실험에 사용한 암세포가 다 같이 인체의 장암 세포의 일종이라 할지라도 각 암세포의 기원이나 특성의 차이 때문에 나타나는 결과일 것으로 믿어진다. 그리고 이 결과는 王²⁶⁾ 등의 보고에서 지적한 바와도 일치된다

이와 같이 같은 계열의 암세포라 할지라도 같은 약제에 대한 반응의 차이를 보이는 것이므로 약제의 항암성 성분의 선별 실험에 있어서는 여러 암세포를 대상으로 광범위하게 실시함이 필요하다고 하겠다.

이상의 결과를 종합해 보면 두층 성분 중에서도 물이나 알콜보다 비극성 용매인 석유에테르 또는 클로르폼 등에 용출되는 성분 중에 비교적 강한 인체 장암세포(HRT-18, HCT-48 및 HT-29)의 증식 억제 효과가 있다고 인정된다.

결 론

본 연구는 국산 생약제 중 두층 추출물의 항암성을 *in vitro*에서 인체 장암세포인 HRT-18, HCT-48 및 HT-29 등에 대하여 선별 시험한 것이다.

두층 추출물은 건조된 두층잎을 분말화한 후 물, 알콜, 아세톤, 클로르폼 및 석유에테르 등 5종의 용매로 각각 추출하여 만들었다.

각 추출물의 항암성 활성을 측정한 결과 3종의 인체 장암세포(HRT-18, HCT-48 및 HT-29)에 대한 증식 억제효과는 석유에테르 추출물이 가장 강하였고 다음이 클로르폼 추출물이었다. 그리고 물, 알콜 및 아세톤 추출물의 암세포증식 억제 효과는 석유에테르과 클로르폼 추출물보다 매우 낮았다.

한편 각 추출물의 활성을 각 암세포별로 비교하며 HT-29에서 가장 강하였고 다음이 HRT-18, HCT-48 등의 순위였다.

이상의 결과로 보아 인체 장암세포의 증식 억제효과는 두층 잎에서 극성 용매보다 비극성 용매에 추출되는 성분 중에 많음을 알 수 있고 이들 성분의 활성은 암세

포 종류에 따라 차이가 있음을 알 수 있다.

참고문헌

1. 차승만 : 항암 및 항세균 생약의 통계학적 연구, 생약학회지, 8, 1(1977)
2. 申估求 : 申氏 本草學, 初版, 수문사, 서울(1972)
3. 許俊 : 동의보감, 동의보감 국역위원회, 조판, 남산동, 서울(1969)
4. 홍문화 : 한방 처방의 통계학적 연구 (I), 생약의 처방 출현빈도 및 기원분포, 생약학회지, 3, 57(1972)
5. 홍문화 : 한방 처방의 통계학적 연구 (II), 인삼 배합 한방처방의 통계학적 연구, 생약학회지, 3, 187(1972)
6. Dybowski and Form : *Compt. rend.*, 129, 558(1899) quoted by "Influence of Eucommial Cortex of Korea on the blood pressure response of rabbits", *Kor. J. Pharmacog.*, 6, 39(1975)
7. Sievers : *J. Amer. Chem. Soc.*, 39, 725(1917) quoted by *Kor. J. Pharmacog.*, 6, 39(1975)
8. Schidrowitz, I. R. : *J.* 62, 559,(1921) quoted by *Kor. J. Pharmacog.*, 6, 39(1975)
9. 簡東緒 : 家兔血壓, 山阜醫記, 5, 480(1957)
10. Chung, M.H. and Park, C.W. : Studies on the development of anitihypertensive agents from Korean crude drug I, II, III., *Kor. J. Pharmacog.* 6, 29(1975)
11. Ko, Y.O. and Sung, H.G : A study on the cutting of *Eucommia ulmoides* oliv, *Kor. J. Pharmacog.*, 7, 59(1976)
12. 황우익 : 한국산 생약제로부터 항암성분의 추출 및 그의 항암성 활성 측정에 관한 연구, 한국생화학회지, 13, 25(1980)
13. 황우익 : 마늘로부터 항암성 성분의 추출 및 그의 항암성 활성 측정에 관한 연구, 한국생화학회지, 13, 4(1980)
14. 이서형, 황우익 : 암세포 증식억제에 대한 목향 및 양강 추출물의 영향 연구, 고의대논집, 19, 9(1982)
15. 황우익, 오수경 : 인삼의 지용성 성분과 사포닌 유도체의 항암작용 연구, 고려인삼학회지, 8, 153

- (1984)
16. 황우익, 오수경 : 고려인삼중 지용성 성분이 인체암 세포의 수종효소 활성에 미치는 영향, *고려인삼학회지*, **10**, 1(1986)
 17. 황우익, 최정애 : 두충 추출물이 동물성 암세포 증식억제에 미치는 영향, *고의대논문집*, **20**, 51(1983)
 18. Schmidt, M. and Good, R.A. : Transplantation of human cancers to nude mice and effects of thymus grafts, *J. Nat. Cancer Inst.*, **55**, 81(1975)
 19. Stanbridge, E.J. and Boulger, L.R. : Optimal conditions for the growth of malignant human and animal cell population in immunosuppressed mice, *Cancer Res.*, **35**, 2203(1975)
 20. Epstein, A.L., Herman, M.M. and Kim, H. : Biology of human malignant lymphomas. III, Intracranial heterotransplantation in the nude, athymic mouse, *Cancer*, **37**, 2158(1976)
 21. Pollack, R., Osborn, M. and Weber, K. : Patterns of organization of action and myosin in normal transformed cultured cells, *Proc. Nat. Acad. Sci. (US)*, **72**, 994(1975)
 22. Fujita, M., Hayata, S. and Taguchi, T. : Relationship of chemotherapy on human cancer xenografts in nude mice to clinical response in ponor patient, *J. of Surgical Oncology(Japan)*, **15**, 211(1980)
 23. Tsou, D., Shi, Z., Wong, A. and Kim, Y.S. : Effect of sodium butyrate on carcinoembryonic antigen production by human colonic adenocarcinoma cells in culture, *Cancer Res.*, **43**, 1217(1983)
 24. Chu, M.Y. and Fischer, G.A. : The incorporation of 3H-cytosine arabinoside and its effect on murine leukemia cells (L5178Y), *Biochem. Pharmacol.*, **17**, 753(1968)
 25. 大星章一, 菅野晴夫 : 人體 癌細胞の培養, 初版, 朝倉書店, 東京(1975)
 26. 王弘實, 朱軫淳, 黃祐翊 : 암세포의 증식과 그 세포 크기 변동에 미치는 과두 및 대극 추출물의 영향, *고의대 논문집*, **20**, 51(1983)

(1992년 4월 30일 접수)