

The effects of herbs on the radiation-induced apoptosis in intestinal crypt cells

Sung-Ho Kim, Mi-Ra An, Seung-Yeol Nah, Jong-Hwan Lee, Jae-Ha Kim*, Sung-Kee Jo**, Jong-Sik Jang*** and Dong-Ho Shin

College of Veterinary Medicine,

*College of Medicine, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea

**Food Irradiation Team, Korea Atomic Energy Research Institute, Taejon 305-353, Korea

***Dept. of Animal Science, Sangju National University, Sangju 742-170, Korea

방사선 조사 마우스에서 소장암세포의 Apoptosis 발생에 미치는 생약의 효과

김성호 · 안미라 · 나승열 · 이종환 · 김재하* · 조성기** · 장종식*** · 신동호

전남대학교 수의과대학, *전남대학교 의과대학

한국원자력연구소 방사선식품·생명공학기술개발팀, *상주대학교 축산학과

(2001년 1월 18일 접수, 2001년 3월 8일 채택)

Abstract - This study was performed to determine the effect of several herbs on radiation-induced apoptosis in jejunal crypt cells. Longyanrou(*Euphoris longana*), Suanzaoren(*Zizyphus vulgaris*), Yuanzhi(*Polygala tenuifolia*), Rensan(*Panax ginseng*), Fuling(*Poria cocos*), Muxiang(*Saussurea lappa*), Chuanxiong(*Cnidium officinale*), Baishaoyao(*Paeonia lactifolia*), Shengma(*Cimicifuga heracleifolia*), Chaihu(*Bupleurum falcatum*) and Dongchongxiacao(*Paecilomyces japonica*) reduced the frequency of radiation-induced apoptosis($p<0.05$). Although the mechanisms of this effect remain to be elucidated, these results indicated that Longyanrou, Suanzaoren, Yuanzhi, Rensan, Fuling, Muxiang, Chuanxiong, Baishaoyao, Shengma, Chaihu and Dongchongxiacao might be useful inhibitors of apoptosis, especially since these are relative nontoxic natural products.

Key words : apoptosis, herbs, radiation, mouse

요약 - Apoptosis의 유발을 억제하는 한약제를 파악하여 apoptosis와 관련된 정상적 또는 질병에 대한 연구에 자료를 제공하고자 방사선에 의해 유도된 apoptosis를 지표로 한의학적 처방에서 많이 사용되는 대표적 한약제(24종)의 효과를 검증하였다. 용안육, 산조인, 원지, 인삼, 복령, 목향, 천궁, 백작약, 승마, 시호 및 눈꽃동충하초 투여군에서 apoptosis는 감소되었으며, 이들 생약제는 apoptosis와 관련된 질병의 예방 및 치료에 적용할 수 있을 것이다. 추 후 이들 생약의 작용 기전에 대한 연구가 요구된다.

중심어 : apoptosis, 생약, 방사선, 마우스.

서 론

최근 생물학적 연구분야에서 지대한 관심의 대상이 되고 있는 apoptosis는 1970년에 Okada [1]에 의해 처음 정의된 후 몇몇 연구자에 의해 방사선

조사에 대하여 apoptosis에 감수성있는 세포형으로 림프구, 흉선세포, 장암세포, 종양세포 및 몇 가지 세포주 등이 알려져 있다 [2]. Apoptosis는 생체내 생리학적 조절에 의해 세포가 자연 소멸되는 현상으로 장점막상피나 샘조직세포, 림프기관

의 종자중심과 같은 정상조직에서의 세포교체시, 태생기 발생 및 변태과정, 임신 분만시 자궁, 유방의 크기, 젖샘세포에서와 같은 내분비 호르몬 작용에 의한 장기의 위축과 비대 및 많은 종양조직에서 관찰할 수 있다. 이는 심한 생리적 또는 화학적 자극에 의해 일어나는 괴사와 구별되며 형태학적으로 세포벽의 공포화, 세포질과 핵의 농축 및 apoptotic body가 관찰되고 여러가지 생화학적 변화가 나타난다 [3].

Apoptosis는 병리학적으로는 hormone의 결핍, 독소, virus 감염 및 암의 화학요법제와 같은 외인성 물질에 의해서도 유도되며, 동물장기의 발생과 퇴화, 암의 악성 양성의 구별, 약물의 치료효과 판정 등의 연구에 중요한 자료가 되며 세균에 의해 생산된 lipopolysaccharide를 이용한 실험적 apoptosis 유도는 세균성 shock에서 세포의 괴사를 연구하는데 중요한 자료가 된다 [4~5].

현대의학의 발전에 따라 각종 의약품들이 개발되어 치료에 응용되고 있으나 아직도 다수의 질병 치료에 한계가 있으며, 약물의 지속적인 사용에 따른 부작용도 나타나고 있다. 따라서 독성이 적으면서 치료효과가 입증된 천연물에 의한 대체요법과 건강식품 개발의 필요성이 증가되고 있다. 천연물에 의한 처방은 동아시아와 일부 유럽에서 응용되고 있으며, 동양에서는 한의학의 처방에 따라 여러 종류의 생약을 혼합하여 열탕 추출 후 건조 분말을 사용하기도 한다. 이러한 생약처방제는 여러 종류의 급, 만성질환의 치료에 대한 효능은 일부 알려져 있으나 이들의 약리학적 작용기전 또는 성분이 명확히 밝혀져 있지 않으며, 실험적으로나 임상적으로 충분한 검증이 이루어지지 않았다.

본 연구에서는 보고가 거의 없는 apoptosis의 유발과 관련하여 한약제의 효능을 파악함으로써 apoptosis와 관련된 정상적 또는 질병에 대한 연구에 기초자료를 제공하고자 방사선에 의해 유도된 apoptosis를 지표로 한의학적인 처방에서 많이 사용되는 대표적 한약제(24종)의 효과를 검증하였다.

실험재료 및 방법

실험동물

생후 7~8주령의 ICR마우스를 군당 6마리로 하여 음수 및 고형사료를 자유로이 섭취할 수 있게 하고 실험군의 분류는 정상 대조군, γ 선 조사군 및 방사선 조사전 36시간과 12시간에 마우스 마리당 1mg의 시험물질을 주사용 증류수 0.2ml에 용해시켜 복강내 2회 주사한 군 및 시험물질 단독

주사군으로 하였다.

시료제조

생약재로는 한의학적인 처방에서 많이 사용되는 대표적 한약제인 당귀(*Angelica sinensis*, Danggui), 용안육(*Euphoris longana*, Longyanrou), 산조인(*Zizyphus vulgaris*, Suanzaoren), 원지(*Polygala tenuifolia*, Yuanzhi), 인삼(*Panax ginseng*, Rensan), 황기(*Astragalus membranaceus*, Huangqi), 백출(*Atractylodes japonica*, Baizhu), 복령(*Poria cocos*, Fuling), 목향(*Saussurea lappa*, Muxiang), 감초(*Glycyrrhiza glabra*, Gancao), 의이인(*Coix lacryma-jabi*, Yiyiren), 백편두(*Dolichos lablab*, Baibiandou), 산약(*Discorea japonica*, Shanyao), 연육(*Nelumbo mucifera* Gaertn, Lianrou), 사인(*Ammomum xanthioides*, Sharen), 진피(*Citrus unshiu*, Chenpi), 길경(*Platycodon grandiflorum*, Jiegeng), 숙지황(*Rehmannia glutinosa*, Shoudehuang), 천궁(*Cnidium officinale*, Chuanxiang), 백작약(*Paeonia lactifolia*, Baishaoyao), 육계(*Cinnamomum cassia*, Rougui), 승마(*Cimicifuga heracleifolia*, Shengma), 시호(*Bupleurum falcatum*, Chaihu) 및 눈꽃동충하초(*Paecilomyces japonica*, Dongchongxiacao)를 적용하였다. 생약재는 시중에 상품화된 건조제품을 구입하였고, 눈꽃동충하초는 진라남도 담양의 재배농가(가치마을영농조합법인)에서 배양된 제품을 사용하였으며 순천대학교 한약자원학과에서 분류학적 동정을 실시한 후 시료로 사용하였다. 각 생약을 세절하여, 생약 100g당 증류수 1,000ml의 비율로 혼합하고 80°C 수조에서 8시간 증탕 추출한 뒤 고형분을 제거한 현탁액을 200g에서 10분간 원심분리시키고 상층액을 여과하여 감압농축하고 동결 건조시켰다.

방사선 조사

방사선 조사는 실험용 방사선 조사기(Gammacell 3000 Elan, Nordion International Co. Canada)를 이용하여 Cesium-137 γ 선을 2 Gy 조사하고 조사 후 6시간에 각 실험군에서 apoptotic cell의 발생변화를 관찰하였다. 방사선 처리는 소장염세포의 분열 상황과 관련하여 공히 오전 9시에 시행하였다.

조직표본제작

방사선조사 후 각 실험군의 마우스를 희생시켜 마우스의 소장(공장)을 적출하고 중성 formalin고

정액에 고정하였다. 파라핀으로 포매한 조직은 3~4 μ m 두께로 절편을 제작하여 hematoxylin-eosin (H-E) 염색 및 DNA fragments 측정을 위하여 *in situ* apoptosis detection kit (ApopTag, Oncor)를 사용, *in situ* end labelling (ISEL)을 실시하였다. 간단히 기술하면, 표본 슬라이드에 terminal deoxynucleotidyl transferase를 가하는 방법으로 DNA fragment(3'-OH ends)에 digoxigenin-nucleotides 잔기를 부착시키고 anti-digoxigenin-peroxidase를 처리한 다음 통상적인 diaminobenzidine (Sigma Chemical Co.) 염색법으로 발색하였다[6].

검경

마우스 소장은 실험군별 6마리의 마우스로부터 각 40개씩(군별 총 240개)의 소장염에서 Paneth 세포를 제외한 4번째 세포까지를 기저부(base)로 하여 apoptotic cell을 기저부와 전체 소장염에서 관찰되는 총 수로 구분하여 산출하였다. 측정에 사용된 소장염은 염의 편측 세포수가 17개 이상인 내장이 확연히 나타나고, 정확히 종질된 염만을 선택하여 대물렌즈 100배 하의 광학현미경으로 검경하였다. 여러 개의 apoptotic body가 그 크기와 형태를 고려할 때, 한 세포의 잔유물로 나타날 때는 한 개의 세포로 측정하였다.

결 과

각 생약의 추출수율은 당귀 33.2%, 용안육 27.5%, 산조인 43.3%, 원지 16.6%, 인삼 39.1%, 황기 7.0%, 백출 33.5%, 복령 1.55%, 목향 7.6%, 감초 15.1%, 의이인 2.5%, 백편두 10.0%, 산약 6.8%, 연육 16.0%, 사인 5.7%, 진피 19.4%, 길경 31.5%, 숙지황 29.5%, 천궁 18.0%, 백작약 12.5%, 육계 14.2%, 승마 9.7%, 시호 16.0%, 눈꽃동충하초 32.0% 였다.

Apoptotic cell은 H-E염색상에서 세포질과 핵염색질의 농축, 핵파편 및 특징적인 세포질의 산호성을 나타냈으며, ISEL염색에서 양성세포로 관찰되었다(그림 1). 정상대조군에서 소장염 당 평균 0.08개가 관찰되었고 방사선조사에 따라 증가되었다. 소장염세포에서 대부분의 apoptosis는 기저부에 형성되었다. 생약제 단독 투여군에서는 무처리 대조군에 비하여 유의성있는 증가 및 감소의 예는 없었다. 방사선 조사 전에 용안육, 산조인, 원지, 인삼, 복령, 목향, 천궁, 백작약, 승마, 시호, 눈꽃동충하초를 투여한 군에서 통계적으로 유의성 있는

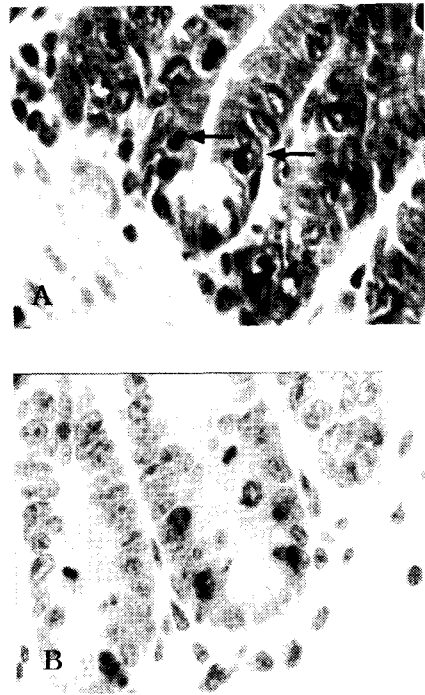


Fig. 1. Intestinal crypts of mouse 6 hours after exposure to 2 Gy gamma-radiation. (A) Cells exhibiting pyknosis of nuclei (arrows) are seen. H-E staining, X330. (B) *In situ* DNA end labelling (ISEL) demonstrating numerous apoptotic nuclei and bodies in the crypt. ISEL, chromogen diaminobenzidine, hematoxylin counterstaining, X330.

apoptosis의 감소를 나타냈다(표 1). 특히 용안육과 눈꽃동충하초 투여군에서 현저한 감소효과를 나타냈으며($p < 0.0005$) 감초, 의이인, 백편두, 연육, 길경, 육계 투여군의 경우 apoptosis는 증가되었다.

고 찰

Apoptosis의 유발을 억제하는 한약제를 파악하여 apoptosis와 관련된 정상적 또는 질병에 대한 연구에 자료를 제공하고자 방사선에 의해 유도된 apoptosis를 지표로 한의학적 처방에서 많이 사용되는 대표적 한약제의 효과를 검증하였다.

당귀는 조혈세포의 증식과 분화를 촉진하고 [7], 인삼은 전통적인 생약으로 많은 연구자에 의하여 과학적으로 성분 및 효능이 밝혀지고 있으며 [8] 복령은 GM-CSF 분비를 증가시키며 [9], 백출은 항바이러스효과 [10], 항궤양효과 [11], 이노작용 [12]이 있는 것으로 알려져 있다. 한편, 감초는 항궤양 [13], 항염 [14], 진정작용 [15] 등이 보고되었

Table 1. Effect of oriental herbs on incidence of cell death by apoptosis in crypt of intestine following irradiation (M±SD).

Groups	Apoptotic cell per crypt	
	Base	Total
Untreated control	0.063±0.025	0.081±0.036
Irradiation control (2 Gy)	4.088±0.423	4.481±0.262
Danggui + irradiation	2.974±1.625	3.407±1.489
Longyanrou + irradiation	1.788±0.334 ^a	2.038±0.383 ^a
Suanzaoren + irradiation	2.844±0.487 ^b	3.250±0.594 ^b
Yuanzhi + irradiation	2.944±0.754 ^c	3.163±0.697 ^c
Rensan + irradiation	2.739±0.682 ^c	3.281±0.743 ^c
Huangqi + irradiation	3.144±0.647	3.624±0.727
Baizhu + irradiation	3.388±2.280	3.656±3.285
Fuling + irradiation	2.743±0.843 ^c	3.274±0.945 ^c
Muxiang + irradiation	2.106±0.624 ^d	2.238±0.717 ^d
Gancao + irradiation	4.858±2.194	5.481±3.136
Untreated control	0.071±0.036	0.091±0.032
Irradiated control (2 Gy)	4.688±1.138	4.938±1.194
Yiyiren + irradiation	4.825±2.986	5.25 ± 4.986
Baihiandou + irradiation	4.95 ± 1.830	5.282±2.372
Shanyao + irradiation	3.294±1.852	3.763±1.090
Lianrou + irradiation	5.244±1.898	5.632±2.368
Shren + irradiation	3.325±1.917	3.125±2.317
Chenpi + irradiation	3.288±0.165	3.6 ± 0.177
Jiegeng + irradiation	6.488±2.453	7.269±1.194
Shoudehuang + irradiation	3.1 ± 0.975	3.369±1.080
Chuanxiong + irradiation	2.519±0.335 ^c	2.856±0.478 ^c
Baishaoyao + irradiation	2.594±0.464 ^c	2.806±0.429 ^c
Rougui + irradiation	5.092±1.472	5.243±1.856
Shengma + irradiation	2.388±0.449 ^b	2.619±0.452 ^c
Chaihu + irradiation	2.944±0.405 ^c	3.275±0.448 ^c
Untreated control	0.068±0.025	0.081±0.031
Irradiation control (2 Gy)	3.175±0.102	3.675±0.155
Dongchongxiacao + irradiation	2.269±0.111 ^e	2.688±0.155 ^a

Extracts of herbs (1mg/animal) were given i.p. at 36 and 12 hours before irradiation. ^a:p<0.0005, ^b:p<0.01, ^c:p<0.05, ^d:p<0.005, ^e:p<0.0001 as compared with irradiation control group.

고, 원지는 살충작용 [16], 목향은 항궤양작용 [17]을 가지며 산조인은 히스타민 방출을 억제시킨다 [18]는 보고가 있었다. 산약은 골다공증 예방 [19]과 노화방지작용 [20], 백편두는 림프구 증식작용 [21], 화학요법시 사인의 혼용시에는 항암제 독성

완화작용 [22]이 보고되었다. 이 외에 길경은 진해, 거담 작용 [23], 체장 외분비자극 [24], 구충작용 (25), 고콜레스테롤 및 고지혈증의 완화효과 [26]을 가지며 이의 부작용으로 염색체 변이원성 [27]이 보고된 바 있다. 천궁은 x-ray에 의해 유발

된 치사율과 피부손상에 대한 방호작용을 가지고 있으며 [28], 황기는 항바이러스 효과를 나타내고 [29], 육계는 항염작용 [30]을 갖는다고 알려져 있다. 승마는 항염, 진통, 해열효과가 있고 [31], 시호는 세포분열유도, 항암 및 진통효과가 보고되었다 [32~34]. 동충하초는 전세계적으로 학자에 따라 100속 600~800여종으로 분류되고 있으며 한국에서도 번데기동충하초(*Cordyceps militaris*) 외 76종이 분류 동정 되었다. 최근 각종 생리활성 물질의 함유여부 및 생물학적 효능이 시험되고 있다 [35, 36].

Apoptosis에 의한 세포사는 DNA 손상에 의한 급성효과의 결과로서 인식되고 있으며 특히 증식성이 강한 세포에서 쉽게 나타난다. 소장염세포는 성숙개체에서 12시간의 세포주기로 가장 빠르게 증식하는 세포이다. 각 움은 약 250개의 세포로 구성되며 이 중 약 150개가 세포증식주기에 포함되어 있다. 원줄기세포는 움의 기저부에 존재하며 분열하지 않는 세포인 Paneth세포의 위에 주로 위치한다 [37]. 복강에서 위장관계통의 위치적 관계로 암의 방사선 치료시 주요부위이며 [38], 정상세포의 손상으로 인한 장사(intestinal death)가 방사선장해와 관련하여 중요하다. 외국의 경우 치료방사선과 영역에서 방사선과 apoptosis의 관계가 활발히 연구되고 있으며 최근 방사선에 의한 apoptosis를 조절하는 물질의 효과를 보고하기도 하였다 [39].

한편 apoptosis는 세포에 대한 약간의 oxidative stress에 의해 유도되기도 하며 이는 정상적인 생명현상 뿐만 아니라 퇴행성질환을 비롯한 각종 병리현상을 일으키는 외인성 물질에 의한 질병의 발생과도 연관이 있다. 따라서 본 연구에서 apoptosis의 유발을 억제하는 효과가 확인된 용안육, 산조인, 원지, 인삼, 복령, 목향, 천궁, 백작약, 승마, 시호 및 눈꽃동충하초를 apoptosis와 관련된 질병의 예방 및 치료에 적용할 수 있을 것이다. 추 후 이들 생약의 작용 기전에 대한 연구가 요구된다.

결 론

Apoptosis의 유발을 억제하는 한약제를 파악하여 apoptosis와 관련된 정상적 또는 질병에 대한 연구에 자료를 제공하고 방사선에 의해 유도된 apoptosis를 지표로 한의학적 처방에서 많이 사용되는 대표적 한약제(24종)의 효과를 검증하였다. apoptosis는 세포에 대한 약간의 oxidative stress

에 의해 유도되기도 하며 이는 정상적인 생명현상 뿐만 아니라 퇴행성질환을 비롯한 각종 병리현상을 일으키는 외인성 물질에 의한 질병의 발생과도 연관이 있다. 따라서 본 연구에서 apoptosis의 유발을 억제하는 효과가 확인된 용안육, 산조인, 원지, 인삼, 복령, 목향, 천궁, 백작약, 승마, 시호 및 눈꽃동충하초를 apoptosis와 관련된 질병의 예방 및 치료에 적용할 수 있을 것이다. 추 후 이들 생약의 작용 기전에 대한 연구가 요구된다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부의 원자력연구개발사업의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. S. Okada, "Radiation-induced cell death," in: *Radiation Biochemistry* K.I. Altman, G.G. Gerber and S. Okada, eds., Vol. 1, pp. 247-307, Academic Press, New York(1970).
2. I. Szumiel, "Review: Ionizing radiation-induced cell death," *Int. J. Radiat. Biol.*, 66, 329-341(1991).
3. A.J. Hale, C.A. Smith, L.C. Sutherland, V.E.A. Stoneman, V.L. Longthorne, A.C. Culhane and G.T. Williams, "Review, Apoptosis : molecular regulation of cell death," *Eur. J. Biochem.*, 236, 1-26(1996).
4. M. Colecchia, B. Frigo, C. Del Boca, A. Guardamagna, A. Zucchi, D. Colloi and O. Leopardi, "Detection of apoptosis by the tunel technique in clinically localised prostatic cancer before and after combined endocrine therapy," *J. Clin. Pathol.*, 30, 384-388(1997).
5. G.M. Ledda-Columbano, P. Coni, M. Curto, L. Giacomini, G. Faa, S. Oliverio, M. Piacentini and A. Columbano, "Induction to two different modes of cell death, apoptosis and necrosis, in rat liver after a single dose of thioacetamide," *Am. J. Pathol.*, 139, 1099-1109(1991).
6. J.H. Wijsman, R.R. Jonker, R. Keijzer, C.J. Van de Velde, C.J. Cornelisse and J.H. Van Dierendonck, "A new method to detect apoptosis in paraffin sections: *in situ* end-labeling of fragmented DNA," *J. Histochem. Cytochem.*, 41, 7-12(1993).

7. Q.B. Mei, J.Y. Tao and B. Cui, "Advances in the pharmacological studies of *Radiax angelica sinsesis(oliv) diels*(Chinese danggui)," *Chin. Med. J.* 104, 776-781(1991).
8. 남기열, 최신 고려 인삼(성분 및 효능 편), 한국인삼연구회(1996).
9. J. Tseng and T.L. Li, "Si-jun-zi-tang regulate granulocyte macrophage colony-stimulating factor secretion by human peripheral blood mononuclear cells," *Am. J. Chin. Med.*, 24, 45-52(1996).
10. S.T. He, F.Z. He and C.R. Wu, "Clinical and experimental study on treatment of rotavirus enteritis with qiwei baizhu powder," *Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih*, 16, 132-135(1996).
11. H. Matsuda, Y.H. Li, K. Tanguchi, J. Yamahara and Y. Tamai, "Imaging analysis of antiulcer action and the active constituent of *Atractyloides rhizoma*," *Yakugaku Zasshi*, 111, 36-39(1991).
12. K. Satoh, I. Yasuda, F. Nagai, K. Ushiyama, K. Akiyama and I. Kano, "The effect of crude drugs using diuretic on horse kidney ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-adenosine triphosphatase," *Yakugaku Zasshi*, 111, 138-145(1991).
13. Y. Goso, Y. Ogata, K. Ishihara and K. Hotta, "Effect of traditional herbal medicine on gastric mucin against ethanol-induced gastric injury in rats," *Comp. Biochem. Physiol. C. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.*, 113, 17-21(1996).
14. S. Amagaya, E. Sugishita, Y. Ogihara, K. Ogawa and T. Aizawa, "Comparative studies of the stereoisomers of glycyrrhetic acid on anti-inflammatory activities," *J. Pharmacobiodyn.*, 7, 923-928(1984).
15. L. Huang, B. Ye, B. Cai, D. Li, J. Liu and M. Liu, "A preliminary study on the pharmacology of the compound prescription huanggin tang and its component drugs," *Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih*, 15, 115-117(1990).
16. J.K. Rhee, K.J. Woo, B.K. Baek and B.J. Ahn, "Screening of the wormicidal Chinese raw drugs on *Clonorchis sinensis*," *Am. J. Chin. Med.*, 9, 277-284(1981).
17. M. Yoshikawa, S. Hatakeyama, Y. Inoue and J. Yamahara, "Saussureamines A, B, C, D and E, new anti-ulcer principles from Chinese *Saussureae Radix*," *Chem. Pharm. Bull.*, 41, 214-216(1993).
18. M. Yoshikawa, T. Murakami, A. Ikebata, S. Wakao, N. Murakami, H. Matsuda and J. Yamahara, "Bioactive saponins and glycosides. X. On the constituents of *Zizyphi spinosi semen*, the seeds of *Zizyphus jujuba Mill. var. spinosa* Hu (1) : Structures and histamine release-inhibitory effect of jujubosides A₁ and C and acetyljujuboside B," *Chem. Pharm. Bull.*, 45, 1186-1192(1997).
19. L. Shen, J.Y. Du and J.Y. Yang, "Preliminary clinical study on prevention of bone loss in postmenopausal women with kidney invigoration," *Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih*, 14, 515-518(1994).
20. X.P. Li, "Experimental study on anti-senility of the 4 famous Chinese herbs produced in Huaiqing area," *Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih.*, 11, 486-487(1991).
21. J. Favero, F. Miquel, J. Dornand and J.C. Mani, "Determination of mitogenic properties and lymphocyte target sites of *Dolichos lablab* lactin (DLA) : Comparative study with concanavalin A and galactose oxidase cell surface receptors," *Cell Immunol.*, 112, 302-314(1988).
22. J.Q. Liu and D.W. Wu, "32 cases of postoperative osteogenic sarcoma treated by chemotherapy combined with Chinese medicinal herbs," *Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih*, 13, 150-152(1993).
23. N. Imamura, M. Misawa, H. Kitagawa, S. Yanaura and H. Ishizone, "Antitussive and expectorant effect of Asada-ama extract," *Nippon Yakurigaku Zasshi*, 87, 495-505(1986).
24. I. Arai, Y. Komatsu, Y. Hirai, K. Shingu, Y. Ida, H. Yamaura, T. Yamamoto, Y. Kuroiwa, K. Sasaki and S. Taguchi, "Stimulative effects of saponin from kikyoto, a Japanese herbal medicine, on pancreatic exocrine secretion of conscious rats," *Planta*.

- Med.*, 63, 419-424(1997).
25. J.K. Rhee, K.J. Woo, B.K. Baek and B.J. Ahn, "Screening of the wormicidal Chinese raw drugs on *Clonorchis sinensis*," *Am. J. Chin. Med.*, 9, 277-284(1981).
 26. K.S. Kim, O. Ezaki, S. Ikemoto and H. Itakura, "Effect of *Platycodon grandiflorum* feeding on serum and liver lipid concentrations in rats with diet-induced hyperlipemia," *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 41, 485-491(1995).
 27. X.J. Yin, D.X. Liu, H.C. Wang and Y. Zhou, "A study on the mutagenicity of 102 raw pharmaceuticals used in Chinese traditional medicine," *Mutat. Res.*, 260, 73-82(1991).
 28. S. Ohta, N. Sakurai, Y. Sato, T. Inoue and M. Shinoda, "Studies on chemical protectors against radiation. XXX. Radioprotective substances of *Cnidii rhizoma*," *Yakugaku Zasshi*, 110, 746-754(1990).
 29. K. Kajimura, Y. Takagi, N. Ueba, K. Yamasaki, Y. Sakagami, H. Yokoyama and K. Yoneda, "Protective effect of *Astragali radix* by oral administration against Japanese encephalitis virus infection in mice," *Biol. Pharm. Bull.*, 19, 1166-1169(1996).
 30. M. Kubo, S. Ma, J. Wu and H. Matsuda, "Anti-inflammatory activities of 70% methanolic extract from *Cinnamomi cortex*," *Biol. Pharm. Bull.*, 19, 1041-1045(1996).
 31. M. Sakurai and M. Nagai, "Chemical constituents of original plants of *Cimicifugae rhizoma* in Chinese medicine," *Yakugaku Zasshi*, 116, 850-865(1996).
 32. H. Oka, N. Ohno, S. Iwanaga, S. Izumi, T. Kawakita, K. Nomoto and T. Yadomae, "Characterization of mitogenic substances in the hot water extract of *Bupleuri radix*," *Biol. Pharm. Bull.*, 18, 757-765(1995).
 33. L.D. Kok, C.K. Wong, K.N. Leung, S.F. Tsang, K.P. Fung and Y.M. Choy, "Activation anti-tumor effector cells by *Radix Bupleuri*," *Immunopharmacology*, 30, 79-87(1995).
 34. Y. Motoo, H. Taga, S.B. Su and N. Sawabu, "Effect of gengen-tang on painful gynecomastia in patients with liver cirrhosis: a brief report," *Am. J. Chin. Med.*, 25, 317-324(1997).
 35. 이희덕, 김용균, 김홍규, 이가순, "눈꽃동충하초 배지별 인공재배법과 성분분석에 관한 연," *자원식물학회지*, 12, 102-106(1999).
 36. T. Ikumoto, S. Sasaki, H. Namba, R. Toyama, H. Moritoki and T. Mouri, "Physiologically active compounds in the extracts from *Tochukaso* and cultured mycelia of *Cordyceps* and *Isaria*," *Yakugaku Zasshi*, 111, 504-509(1991).
 37. C.S. Potten, A. Merritt, J. Hickman, P. Hall and A. Faranda, "Characterization of radiation-induced apoptosis in the small intestine and its biological implications," *Int. J. Radiat. Biol.*, 65, 71-78(1994).
 38. L. Dewit and Y. Oussoren, "Late effects in the mouse small intestine after a clinically relevant multifractionated radiation treatment," *Radiat. Res.*, 110, 372-384(1987).
 39. A. Orazi, X. Du, Z. Yang, M. Kashai and D.A. Williams, "Interleukin-11 prevents apoptosis and accelerates recovery of small intestinal mucosa in mice treated with combined chemotherapy and radiation," *Lab. Invest.*, 75, 33-42(1996).