인체폐암세포에서 Bcl-2 발현저하 및 caspase 활성을 통한 청조구폐탕의 apoptosis 유발에 관한 연구

조인주 · 감철우 · 김기탁 · 박동일*

동의대학교 한방내과학교실

Apoptosis of Human Lung Carcinoma Cells through the Inhibition of Bcl-2 Expression and Activation of Caspase by Chungjogupae-tang

In Joo Cho, Chul Woo Gam, Ki Tak Kim, Dong Il Park*

Department of Oriental Medicine, Graduate School, Dong-Eui University

We previously reported the anti-proliferative effect of Chungjogupae-tang (CJGPT) in human lung carcinoma A549 cells, which was associated with the induction of cyclin-dependent kinase inhibitor p21 in a tumor suppressor p53-independent manner. CJGPT treatment also resulted in the inhibition of prostaglandin E2 release A549 cells by the down-regulation of cyclooxygenase-2. In the present study, we investigated the pathway of the induction of apoptotic cell death by CJGPT in A549 cells. It was found that CJGPT could inhibit the cell viability and induce the apoptotic cell death of A549 cells in a dose-dependent manner as measured by hemocytometer counts, flow cytometry analysis and agarose gel electrophoresis. Apoptosis of A549 cells by CJGPT was associated with a down-regulation of anti-apoptotic Bcl-2 and inhibitor of apoptosis proteins (IAPs) expression. Additionally, DNA fragmentation by CJGPT was connected with the activation of inhibitor of caspase-activated DNase/DNA fragmentation factor 45 (ICAD/DFF45) protein expression.

Key words : Chungjogupae-tang(淸燥救肺湯), human lung carcinoma cell, Bcl-2, caspase

서 론

肺癌의 誘發因子는 흡연, 대기오염, 직업(석면, 우라늄)과 유전적 요인 등이 알려져 있으며[1], 최근 우리나라의 폐암에 의한 사망률이 인구 10 만명 당 25명으로 암 중 가장 높은 사망률을 보여주고 있으며 흡연인구의 증가, 대기오염, 평균 수명의 증가 등으로 앞으로도 꾸준한 상승이 예상되고 있다[2]. 서양의학적 治療는 手術療法, 放射線療法, 化學療法 등이 있으나 肺癌의 早期發見의 어려움으로 因해 病機가 진행된 경우가 많으므로 대체로 豫後가 不良하여 效果的인 治療法의 開發이 要求되고 있는 실정이다[3]. 한의학에서도 폐암의 치료에 효과적인 방법을 찾고자 많은 연구가 이루어졌다[4-7].

韓醫學에서 肺癌은 그 發病過程 및 症狀면에서 肺積, 肺疽, 息賁, 肺癰 등에 그 범주를 둘 수 있다[8]. 『難經』에서는 "肺之積, 名曰息賁, 在右脇下 覆大如杯, 久不已, 令人洒淅寒熱, 喘咳, 發肺壅" 이라 하였다[9]. 『仲景』에서는 "振寒發熱, 寸脈滑數, 咳嗽膿血, 其人飮食起居如故, 此爲癰腫, 膿在胸中, 爲肺癰, 其脈緊數, 爲膿未成. 緊去但數, 爲膿已成" 이라 하였다[10]. 이러한 증상들은 폐암의 증상과 매우 유사하다. 金元시대 李東垣의 肺積을 치료하는 息賁丸과 兩宋시대 陳無擇의 肺之積을 치료하는 咳嗽方의 적응증은 모두 폐암의 증상과 유사하다. 폐암은 이와 같이 肺積, 肺癰, 息賁 등의 범주로 이해되고 있다. 청조구폐탕은 이러한 범주에 다용되는 처방중 하나로, 淸代에 喩嘉言이 창방한 것으로 咳嗽, 肺癰 등 폐의 宣發肅降機能의 失調로 熱毒이 쌓이고 津液이 마르며, 肺氣가 虛해진 것을 치료하는 처방이다[11].

본 연구에서는 청조구폐탕이 폐암에 대해 항암 효과를 기대할 수 있을 것이라 사려되어, 항암 활성기전 해석을 위하여 인체폐암세포의 apoptosis 유발과 연관된 다양한 유전자들의 변화를 조사한 결과를 보고하고자 한다.

* 교신저자 : 박동일, 부산시 진구 양정2동 산45-1, 동의대학교 한의과대학
· E-mail : dipark@deu.ac.kr, · Tel : 051-850-8650
· 접수 : 2006/09/25 · 수정 : 2006/12/01 · 채택 : 2006/01/28

재료 및 방법

1. 재료 및 세포배양

본 실험에 사용된 청조구폐탕(Table 1)은 동의대학교 부속 한방병원에서 제공 받았으며, 100 g을 1,000 ml의 증류수에 3시간 이상 끓인 후, 3,000 rpm으로 20분간 원심 분리시켜 침전물을 제거하였다. 이를 다시 0.45 μm의 여과지를 이용하여 부유 성분을 걸러낸 후 수용성분을 동결 건조하여 사용하였다. 준비된 청조구폐탕 수용액 추출물(water extract of Chungjogupae-tang, CJGPT)은 3차 증류수에 용해하여 멸균과 여과 과정을 거쳐 배지에 적정 농도로 희석하여 처리하였다. A549 인체 폐암세포는 한국생명공학연구소(KRIBB, Daejeon, Korea)에서 분주 받아 사용하였으며, 암세포의 배양은 선행방법에 준하여 90%의 RPMI-1640 배지 (Gibco BRL, Grand Island, NY, USA), 10% fetal bovine serum (FBS, Gibco BRL)에 1%의 penicillin 및 streptomycin (Gibco BRL)이 포함된 성장배지를 사용하여 37℃, 5% CO_2 조건 하에서 배양하였다. 배지는 매 48시간마다 교환해 주었고, 세포수의 증식에 따른 과밀도 현상을 해소하기 위하여 0.05% trypsin-ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA, Gibco BRL)를 처리하여 세포를 부유시킨 다음 적정수의 세포를 분주하여 재배양하였다.

Table 1. Composition of Chungjogupae-tang used in the present study

한약명	생약명(Herb name)	용량(단위: g)
소엽	*Perilla frutescens Britt*	12
맥문동	*Liriope playphylla*	6
석고	*Gypsum fibrosum*	2.8
인삼	*Panax ginseng*	2.8
호마인	*Sesamum indicum L.*	2.8
아교	*Colla corii asini*	2.8
행인	*Armeniacae semen*	2.8
비파엽	*Eriobotryae folium*	1
감초	*Glycyrrhiza uralensis*	4
Total amount		37

2. MTT assay에 의한 세포 성장억제 조사

세포 배양용 6 well plate에 인체 폐암세포를 1 x 10^5개/ml로 분주하고 24시간 동안 안정화시킨 다음 청조구폐탕 추출물을 배지에 희석하여 각 well 당 1 ~ 4 mg/ml의 농도로 처리한 후 48시간 동안 배양하였다. 48시간 후 배지를 제거하고 tetrazolium bromide salt (MTT, Amresco, Solon, Ohio, USA)를 0.5 mg/ml 농도가 되게 성장배지로 희석하여 2 ml씩 분주하고 3시간 동안 CO_2 incubator에서 배양시킨 다음 MTT 시약을 깨끗하게 제거하고 dimethylsulfoxide를 1 ml씩 분주하여 well에 생성된 formazin을 모두 녹인 후 96 well plate에 200 μl씩 옮겨서 ELISA reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정은 모두 세 번을 하였으며, 그에 대한 평균값과 표준 오차를 Sigma Plot 4.0 프로그램 (SPSS Ins.)으로 구하였다.

3. 위상차 현미경을 이용한 세포의 형태 관찰

세포 배양용 100 mm petri dishe에 세포를 6 x 10^5 개/ml 정도로 분주하여 24시간 동안 안정화시킨 다음 청조구폐탕 추출물을 0, 0.5, 1, 2, 3 mg/ml의 농도로 희석 처리하여 48시간 동안 배양한 후, 위상차 현미경(inverted microscope, Carl Zeiss, Germany)을 이용하여 200배의 배율로 각 농도에 따른 형태의 변화를 관찰한 다음 사진을 촬영하였다.

4. Hemocytometer를 이용한 세포 생존율의 측정

세포 배양용 6 well plate에 A549 인체 폐암세포를 1 x 10^5개/ml로 2 ml씩 분주하고 24시간 동안 안정화시킨 다음 청조구폐탕 추출물을 배지에 희석하여 각 well 당 1, 2, 3, 4, 5 mg/ml의 농도로 처리한 후 48시간 동안 배양하였다. 48시간 후 배지를 제거하고 0.05% trypsin-EDTA를 처리하여 세포를 부유시킨 다음 phosphate-buffered saline (PBS)를 각 well 당 적정량을 첨가하여 세포를 모은 다음, 2,000 rpm으로 5분간 원심분리 하였다. 상층액을 제거하고 세포만 남긴 다음 다시 PBS를 1 ml 첨가하여 잘 섞은 후 세포 부유액과 0.5% trypan blue (Gibco BRL)를 동량으로 섞은 후 2분간 처리하였다. Pasteur pippette의 모세관현상을 이용하여 세포를 hemocytometer로 옮긴 후 위상차 현미경을 이용하여 푸른색으로 염색된 세포를 죽은 세포로 추정하고 염색되지 않은 살아있는 세포수를 측정하였다. 이에 따른 결과를 Sigma Plot 4.0 프로그램 (SPSS Ins.)을 사용하여 분석하였다.

5. DNA flow cytometry에 의한 sub-G1기 세포 분석

정상 및 청조구폐탕 추출물이 함유된 배지에서 48시간 동안 배양시킨 암세포를 PBS로 씻어 내고 0.05% trypsin-EDTA를 처리하여 부유시킨 다음 1,000 rpm으로 10분간 원심 분리하여 상층액을 버리고 세포들만 모았다. 여기에 다시 PBS를 첨가하여 충분히 씻은 다음 1,000 rpm으로 10분간 원심분리 한 후 상층액만 버리고 남은 세포에 0.5 ml의 PBS로 잘 부유시키고, 차가운 ethanol 0.5 ml를 첨가하여 4℃에서 한 시간 동안 고정시켰다. 5 x 10^6개의 고정된 세포들을 원추형 vial에 넣어서 1,000 rpm으로 수 분간 원심 분리하여 상층액을 제거하고, 1% bovine serum albumin (BSA, Sigma, St. Louis, MO, USA)이 함유된 PBS로 2 ~ 3회 washing 과정을 거친 후 다시 수 분간 원심 분리하였다. 세포 침전물을 1% BSA를 함유한 PBS 0.8 ml로 부유시키고 DNA intercalating dye propidium iodide (PI, concentration, 50 μg/ml; Sigma)와 0.1 mg/ml의 RNase (Sigma)를 처리하여 암실, 4℃에서 1시간 동안 염색과정을 거쳤다. PBS로 두 번 washing 과정을 거친 후, 부유액을 만들고, 35 μm pore size의 nylon mesh에 부유액을 pipette으로 통과시켜 단일 세포로 분리시킨 후 DNA flow cytometry (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA)에 적용시켜 형광반응에 따른 histogram을 ModiFit LT (Becton Dickinson) program을 사용하여 분석하였다.

6. DNA 단편화 유도 여부의 분석

특정 세포에 apoptosis가 유발되었을 때 관찰될 수 있는

DNA 단편화(fragmentation)의 분석을 위하여 정상 및 청조구폐탕 추출물이 처리된 배지에서 48 시간 동안 배양된 세포를 모아 lysis buffer [5 mM Tris-HCl (pH 7.5), 5 mM EDTA, 0.5% Triton X-100]를 4℃에서 30분간 처리하였다. 그 후 14,000 rpm에서 20분간 원심분리하고, 그 상층액에 proteinase K (Sigma)를 0.5 mg/ml의 농도로 처리한 다음 60℃에서 3시간 동안 반응시켰다. 그 후 phenol : chloroform : isoamyl alcohol 혼합 용액(25 : 24 : 1, Sigma)을 첨가하고 30분간 rotate시킨 다음 14,000 rpm에서 10분간 원심 분리하였다. 여기서 얻어진 상층액에 적정량의 isopropanol과 5 M NaCl를 첨가하였다. 24시간 정도 냉장 보관한 후, 14,000 rpm, 4℃에서 30분간 원심분리 시킨 후 상층액을 버리고, RNase A가 적당량 들어있는 TE buffer를 이용하여 pellet을 녹이고 여기에 6X gel loading dye (Bioneer, Daejeon, Korea)를 섞어 주었다. 1.5% agarose gel을 만들어서 1시간가량 50 V로 전기영동 시킨 후 ethidium bromide (EtBr, Sigma)로 염색하여 ultra violet (UV) 하에서 사진 촬영하였다.

결 과

1. 암세포의 증식에 미치는 영향

A549 인체 폐암세포의 증식에 미치는 청조구폐탕 추출물(CJGPT)의 영향을 알아보기 위해 이를 48시간동안 농도별로 처리한 후 MTT assay를 이용하여 조사하였다. Fig. 1에서 나타난 바와 같이 청조구폐탕 추출물의 처리 농도가 증가함에 따라 폐암세포의 증식이 강하게 억제됨을 알 수 있었다. 특히 3 mg/ml의 청조구폐탕 추출물을 처리하였을 경우 60% 이상의 증식억제 효과가 있었고, 4 mg/ml의 농도에서는 약 80% 정도의 증식 억제 효과가 나타났다. 이상의 결과들에서 청조구폐탕 추출물 1, 2, 3, 4, 5 mg/ml 처리 범위 내에서 배양된 암세포는 청조구폐탕 추출물의 처리농도 의존적으로 정상적인 암세포 증식이 강하게 억제되었음을 알 수 있었다.

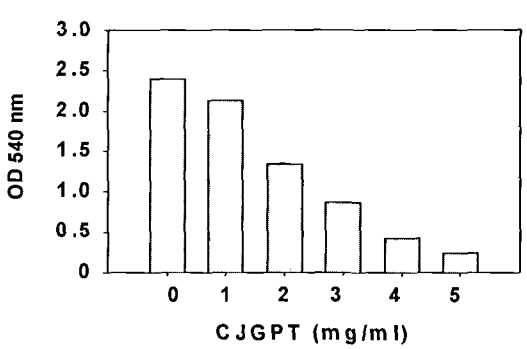

Fig. 1. Growth inhibition of human lung carcinoma A549 cells after treatment with water extract of Chungjogupae-tang(CJGPT). Cells were plated at 1 x 10^5 cells per 60-mm plate, and incubated for 24 h. Cells were treated with variable concentrations of CJGPT for 48 h. The growth inhibition was measured by the metabolic-dye-based MTT assay. Results are expressed as the means ± S.E. of three independent experiments.

2. 암세포의 형태변화에 미치는 영향

Fig. 1의 조건에서 배양된 암세포의 전체적인 형태변화를 알아보기 위하여 청조구폐탕 추출물을 48시간동안 처리한 후 위상차 현미경을 이용하여 관찰하였다. Fig. 2에서 볼 수 있듯이 청조구폐탕 추출물의 농도 증가에 따른 암세포의 심한 형태적 변화가 관찰되었다. 특히 청조구폐탕 추출물의 농도가 증가할수록 암세포의 밀도가 감소하면서 길고 분지를 형성하는 듯한 dendrite-like한 구조로 바뀌었으며, 부착력을 상실하고 배지 위로 부유되는 경향성이 증가함을 알 수 있었다.

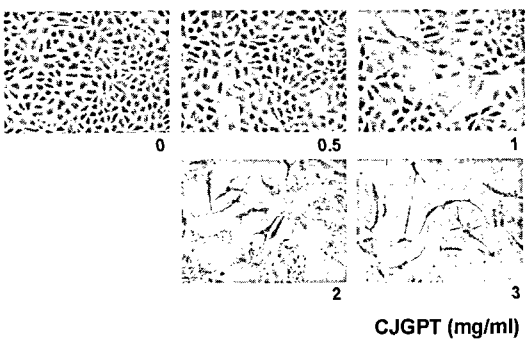

Fig. 2. Morphological changes of human lung carcinoma A549 cells after treatment with CJGPT. Cells were plated at 1 x 10^5 cells per 60-mm plate, and incubated for 24 h. The cells were incubated with variable concentrations of CJGPT. After 48 h. incubation cells were sampled and examined under light microscopy. Magnification, X200.

3. 암세포의 생존율에 미치는 영향

정상 및 청조구폐탕 열수 추출물(CJGPT)이 처리된 배지에서 인체 폐암 세포주 A549 세포에 48시간 동안 배양한 후 hemocytometer를 이용하여 살아있는 세포의 수를 계수하여 청조구폐탕 추출물이 처리되지 않은 대조군의 세포수와 비교한 결과는 Fig. 3에 나타낸 것과 같다. 결과에서 알 수 있듯이 처리된 청조구폐탕 추출물의 농도가 증가될수록 암세포의 생존율은 농도 의존적으로 감소함을 알 수 있었으며, 특히 4 mg/ml 이상 처리군에서의 생존율은 20% 이하로 나타나 청조구폐탕 추출물이 처리된 배지에서 배양된 암세포의 증식이 거의 이루어지지 않았음을 알 수 있었다.

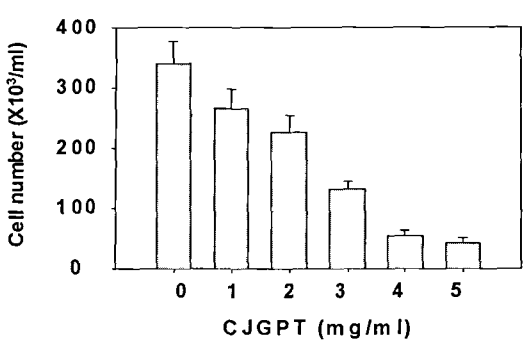

Fig. 3. Inhibition of cell viability by CJGPT treatment in human lung carcinoma A549 cells. Cells were treated with variable concentrations of CJGPT for 48 h. The cells were trypsinized and the viable and dead cells were scored by hemocytometer counts of trypan blue-excluding cells. The data shown are means ± SD of three independent experiments.

4. 암세포의 apoptosis 유발에 미치는 영향

Fig. 3에 제시한 청조구폐탕 추출물의 처리에 따른 생존율 감소가 apoptosis의 유발과 연관성이 있을 것으로 기대되어 동일한 조건으로 배양된 세포들을 대상으로 apoptosis가 유발되었을 경우 전형적으로 관찰되는 DNA 단편화의 유발 여부를 agarose gel 전기영동을 이용하여 조사한 결과, Fig. 4에 나타낸 바와 같이 고농도 처리군에서 뚜렷한 형태의 DNA laddering을 관찰할 수 있었다. 다음은 청조구폐탕 추출물의 처리에 따른 apoptosis 유발의 정도를 정량적으로 비교하기 위하여 DNA flow cytometry 분석을 통한 세포주기의 sub-G1기에 해당되는 세포들의 빈도를 조사하였다. Fig. 5에 나타낸 결과에서 알 수 있듯이 청조구폐탕 추출물의 처리 농도 증가에 따라 sub-G1기에 해당하는 세포의 빈도가 매우 증가함을 알 수 있었다. 특히 청조구폐탕 추출물의 처리 농도가 1 mg/ml 까지는 sub-G1기에 해당하는 세포의 빈도가 소폭 증가하였으나 2 mg/ml의 농도에서 급격히 증가(약 20%)하여 3 mg/ml의 농도에서는 sub-G1기에 해당하는 세포가 56% 이상으로 관찰되었다.

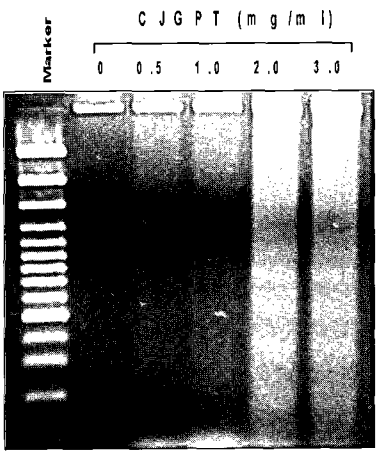

Fig. 4. Induction of DNA fragmentation by CJGPT treatment in human lung carcinoma A549 cells. Cells were exposed for 48 h. with increasing concentration of CJGPT. The cells were collected and DNA was extracted. The DNA fragmentations were separated on 1% agarose gel electrophoresis and visualized under UV light after staining with EtBr.

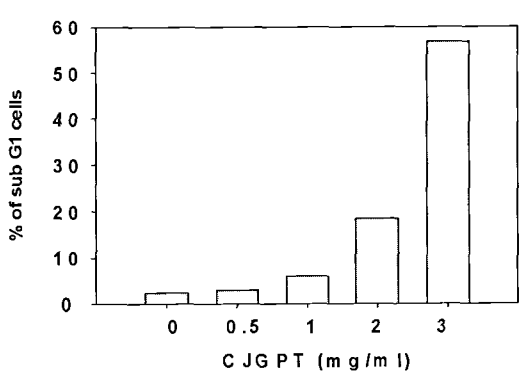

Fig. 5. Increase of sub-G1 cell population by CJGPT treatment in human lung carcinoma A549 cells. Cells were exposed for 48 h. with increasing concentration of CJGPT. Then the cells were collected and stained with PI for flow cytometry analysis. The percentages of cells with hypodiploid DNA (sub-G1 phase) contents represent the fractions undergoing apoptotic DNA degradation. Data are means average of two separate experiments.

5. CAD/DFF40 및 ICAD/DFF45의 발현에 미치는 청조구폐탕 추출물의 영향

청조구폐탕 추출물에 의한 apoptosis 유발의 증거로서 DNA 단편화 현상을 Fig. 4에서 제시한 바 있다. 따라서 청조구폐탕 추출물에 의한 A549 세포의 apoptosis 유발과정에서 DNA 단편화 유도에 관여하는 두 인자 inhibitor of caspase-activated DNase/DNA fragmentation factor 45 (ICAD/DFF45) 및 CAD/DFF40의 단백질 발현에 미치는 청조구폐탕 추출물의 영향을 조사하였다. Fig. 6에서 보는 바와 같이 CAD/DFF40의 경우는 큰 변화가 관찰되지 않았지만 ICAD/DFF45의 경우는 청조구폐탕 추출물 처리농도 의존적으로 단편화 현상이 관찰되었다. 즉 청조구폐탕 추출물의 처리에 의한 암세포의 apoptosis 유발은 caspase의 활성화와 연관된 ICAD/DFF45의 발현억제가 관여할 것으로 생각되며, ICAD/DFF45의 발현억제로 핵 내 DNA의 단편화 현상이 초래될 것으로 추정된다.

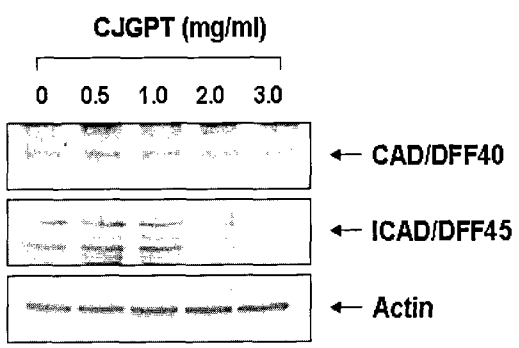

Fig. 6. Effects of CJGPT treatment on the expression of CAD/DFF40 and ICAD/DFF45 in human lung carcinoma A549 cells. After 48 h incubation with CJGPT, the cells were lysed and then cellular proteins were separated by SDS-polyacrylamide gels and transferred onto nitrocellulose membranes. The membranes were probed with anti-CAD/DFF40 and anti-ICAD/DFF45 antibodies. Proteins were visualized using an ECL detection system. Actin was used as an internal control.

고 찰

세포의 여러 가지 활동 중 세포의 죽음은 necrosis와 apoptosis로 구분되며, 이것은 세포의 형태학적 및 생화학적인 특성에 의하여 구분될 수 있다. Apoptosis는 개체의 발생단계나 DNA 손상, 바이러스 감염 등에 의한 유전적 조절 하에서 일어나는 정교한 방어기전이라는 점에서 생리적이거나 화학적인 외상에 의한 세포의 죽음인 necrosis와는 구별된다[12-14]. 특히 apoptosis에는 세포질 및 염색질 응축, 세포막 수포화 현상, DNA 단편화 등이 수반되는데 이러한 현상은 세포내부의 정교한 신호전달에 의해 조절된다[15]. 또한 apoptosis는 개체의 보존수준에서 손상된 세포들의 제거를 위한 중요한 수단이며, 세포주기 의존적 또는 비의존적으로 동시에 일어날 수 있으나, 정상적인 세포주기의 이탈이나 세포주기조절에 중요한 cyclin-dependent kinases (Cdks) 활성의 변화가 apoptotic cell death의 주원인이 될 수 있다[16].

본 연구에서는 청조구폐탕 추출물의 항암 효과에 관한 연구의 일환으로 인체 폐암 세포주 A549을 대상으로 암세포의 증식

에 미치는 영향을 조사하였다. 본 연구에서 설정된 조건에서 청조구폐탕 열수 추출물은 처리 농도 의존적으로 심한 형태적 변형과 핵 내 apoptotic body의 형성이 동반된 A549 세포의 증식을 억제하였다(Fig. 1 및 2). 청조구폐탕 추출물의 항암효과에 관한 구체적인 자료를 제시하고자 청조구폐탕 추출물에 의한 apoptosis 유발 현상에 관한 분자생물학적 기전 해석을 시도하였다. Trypan blue 염색 후 hemocytometer를 이용한 생존율 조사에서 처리된 청조구폐탕 추출물의 농도가 증가될수록 암세포의 생존율은 농도 의존적으로 감소함을 알 수 있었다(Fig. 3). 또한 agarose gel 전기영동에 의한 DNA 단편화 분석에서 청조구폐탕 추출물이 함유된 배지에서 증식된 A549 폐암세포의 뚜렷한 DNA 단편화 유발을 관찰할 수 있었다(Fig. 4). 이러한 결과에서 청조구폐탕 추출물의 처리에 의한 암세포의 증식 억제는 apoptosis 유발과 밀접한 연관성 있을 것으로 기대되어 청조구폐탕 추출물 처리에 따른 apoptosis 유발의 정도를 정량적으로 비교하였다. Fig. 5의 결과에서 알 수 있듯이 청조구폐탕 추출물 처리에 따라 처리 농도 의존적으로 sub-G1기에 속하는 세포의 빈도가 증가되어 생존율 저하 현상과 부합되는 결과를 보여주었다. 또한 Fig. 6에서 보는 바와 같이 CAD/DFF40의 경우는 큰 변화가 관찰되지 않았지만 ICAD/DFF45의 경우는 청조구폐탕 추출물 처리농도 의존적으로 단편화 현상이 관찰되었다. 즉 청조구폐탕 추출물의 처리에 의한 암세포의 apoptosis 유발은 caspase의 활성화와 연관된 ICAD/DFF45의 발현억제가 관여할 것으로 생각되며, ICAD/DFF45의 발현억제로 핵 내 DNA의 단편화 현상이 초래되었을 것으로 추정된다.

이상의 결과에서 청조구폐탕 추출물 처리에 의한 A549 인체 폐암 세포의 증식억제는 apoptosis 유도와 밀접한 연관성이 있었으며, 청조구폐탕 추출물 처리에 따라 ICAD/DFF45가 발현억제됨으로서 DNA 단편화도 apoptosis 유도에 직접적으로 관여하였을 것으로 생각된다. 본 연구의 결과는 선행연구와 더불어 향후 추가적인 연구의 진행을 통하여 청조구폐탕 추출물의 보다 구체적인 암세포 증식억제 기전을 이해할 수 있는 매우 중요한 결과로서 활용될 것이다.

결 론

본 연구에서는 청조구폐탕 열수 추출물 항암기전 해석의 일환으로 A549 인체 폐암세포를 대상으로 apoptosis 유도에 관한 연구를 실시하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

청조구폐탕 추출물의 처리 농도 의존적으로 A549 폐암세포의 생존율이 저하되었다. 이는 apoptosis 유발과 연관성이 있었음을 hemocytometer counts, flow cytometry analysis 및 agarose gel electrophoresis 분석을 통하여 확인하였다. 청조구폐탕 추출물 처리에 의한 DNA의 단편화는 inhibitor of caspase-activated DNase/DNA fragmentation factor 45 (ICAD/DFF45) 단백질의 발현억제와 연관성이 있음을 알 수 있었다.

참고문헌

1. 조종관. 한방임상종양학. 주민출판사, 서울, p 725, 2001.
2. 통계청. 2001년 사망원인통계결과. p 11, 2002.
3. 김성훈, 배기체. 폐암의 변증과 치방에 대한 문헌적 고찰. 대전대학교한의학논문집. 5(2):243-265, 1997.
4. 이성열, 이재훈, 김원일, 배송자, 박동일, 최영현. 길경 수용액 추출물에 의한 인체 폐암세포의 apoptosis 유발에 관한 연구. 생명과학회지. 13(2):154-162, 2003.
5. 박철, 이민우, 김원일, 이원호, 박동일, 최영현. 인삼사폐탕 추출물에 의한 인체 폐암세포의 apoptosis 유도 기전에 관한 연구. 동의생리병리학회지. 17(3):677-683, 2003.
6. 박봉규, 박동일. 천금위경탕의 인체 폐암세포 증식억제에 관한 연구. 동의생리병리학회지. 18(4):1147-1153, 2004.
7. 홍상훈, 감철우, 박동일. 동충하초의 인체 폐암세포 증식억제에 관한 연구. 동의생리병리학회지. 18(4):1102-1106, 2004.
8. 북경중의학원 편. 중의학 임상병리. 성보사, 서울, p 572, 1983.
9. 윤창열, 김용진. 난경연구집성. 주민출판사, 서울, pp 768-769, 2002.
10. 許俊. 동의보감. 법인문화사, 서울, p 1433, 1996.
11. 吳謙. 의종금감. 중국중의학출판사. 북경, p 500, 1995.
12. Searle, J., Kerr, J.F. and Bishop, C.J. Necrosis and apoptosis: distinct modes of cell death with fundamentally different significance. Pathol. Annu. 17:229-259, 1982.
13. Lieberthal, W., Koh, J.S. and Levine, J.S. Necrosis and apoptosis in acute renal failure. Semin. Nephrol. 18:505-518, 1988.
14. Zimmermann, K.C., Bonzon, C. and Green, D.R. The machinery of programmed cell death. Pharmacol. Ther. 92:57-70, 2001.
15. Schulze-Osthoff, K., Ferrari, D., Los, M., Wesselborg, S. and Peter, M.E. Apoptosis signaling by death receptors. Eur. J. Biochem. 254:439-459, 1998.
16. Shi, L., Nishioka, W.K., Th'ng, J., Bradbury, E.M., Litchfield, D.W. and Greenberg, A.H. Premature p34cdc2 activation required for apoptosis. Science 263:1143-1145, 1994.