

Effects of Larval Extracts from *P. brevitarsis seulensis* on Cytokine and Diagnostic Marker in Carbon Tetrachloride-Administered SD Rats

Ji-Sook Lee¹, Ohseok Kwon³, Seock-Yeon Hwang⁴, and Chi-Young Yun¹

Department of Biology, Daejeon University, Daejeon 300-716, Korea¹

Department of Clinical Laboratory Science, Wonkwang Health Science University, Iksan, 570-750, Korea²

School of Applied Biosciences, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea³

Department of Biomedical Laboratory Science and Biotechnology, Daejeon University, Daejeon 300-716, Korea⁴

This study was designed to determine the effects of larval extracts from *Protaetia brevitarsis seulensis* shade dried larva from Korea and China on liver tissues of hepatic injury groups. The experimental groups are divided into five groups; Normal, carbon tetrachloride single injection (CCl₄), Pb-CHI (CCl₄ + *P. brevitarsis* shade dried larva from China), Pb-KOR (CCl₄ + *P. brevitarsis* shade dried larva from Korea) and SIL (CCl₄ + 0.35% silymarin) groups. Sprague Dawley rats were oral injected with CCl₄ at a dose 1 mg/kg (20% in corn oil) for induction of liver damage for 4 weeks. Each experimental group was fed with a dose 50 mg/kg of larval extracts based on medicinal preparations from 3 weeks to 4 weeks after CCl₄ treatment. At the end of 4 weeks, we evaluated the serum levels of glutamate-oxaloacetate transaminase (GOT), glutamate-pyruvate transferase (GPT), alkaline phosphatase (ALP) and blood urea nitrogen (BUN) in serum and the cytokine levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and transforming growth factor- β (TGF- β) in the cells isolated from spleen and liver. The histological analysis was also conducted. The CCl₄ injection reduced body weight, induced congestion of middle lobe and hepatocytic degeneration, resulting in disintegration of hepatic cords, and increased biochemical markers of blood related to hepatic injury. On the other hand, the Pb-CHI and Pb-KOR group decreased the levels of biochemical markers in blood and cytokine levels in spleen and liver. Especially, the Pb-KOR group facilitated the recovery of biochemical values of blood related to hepatic injury, hepatic lesions and fibrosis. Taken together, larval extract from *P. brevitarsis* might prevent acute hepatotoxicity and enhance the recovery of liver fibrosis and cirrhosis induced by CCl₄, and the ingredients could be a promising candidate for the prevention and treatment of hepatic disorders.

Key words: Hepatic injury, Hepatotoxicity, *P. brevitarsis seulensis*, Liver fibrosis

서론

국립암센터 통계자료에 의하면 우리나라 간염 바이러스 보균자의 60~70%가 B형 간염 보균자이며, 특히 간암 환자의 75%가 B형 간염 보균자다. 전체 인구의 5~10%가 만성 B형 간염 바이러스 보균자라는 통계도 있다. 또한, B형, C형 간염바이러스 및 다양한 간의 만성질환은 세계적으로 가장 빈도가 높은 악성종양인 간암의 원인이 된다(홍 등, 2010). 이들의 증상은 피로, 식욕부진, 체중 감소로부터 시작하며

Corresponding author: Yun, Chi-Young, Department of Biology, Daejeon University, Daejeon 300-716, Korea.
Tel: 042-280-2432. Fax: 042-285-2432.
E-mail: chyun@dju.kr

Received : 25 AUG 2011

Return for modification : 15 SEP 2011

Accepted : 18 SEP 2011

진행하면서 황달, 복수 및 전신 쇠약 증세가 나타난다(해리 스페나과학 편찬위원회, 1997).

염증성 사이토카인인 TNF- α 와 세포의 성장과 분화에 있어 중요한 조절물질인 TGF- β 는 암 발생간의 관련을 규명하기 위한 연구를 통해 다양한 암세포에서 이들의 발현이 과도하게 증가됨이 알려져 있다(Thenappan 등, 2011; Li 등 2010; Wang 등, 2010; Pozadzides와 Pro, 2009). 현재 사용되고 있는 원발성 담도성 간경변, 진행 중인 괴사후성 간경변, 간염, 간암을 치료하는 약물로 penicillamine, azathioprine, colchicine, chlorambucil, cyclosporine, prednisolone, interferone 등이 추천되고 있지만(Dickson 등, 1985; Wiesner 등, 1987; Batta 등, 1988; Schuppan, 1995), 낮은 효과와 높은 부작용 및 이를 보완하기 위한 이들 약의 병용 투여는 효과 증대 뿐 만 아니라 부작용도 증가한다고 알려져 있다. 이를 대체 및 보완하기 위해 생약에서 추출된 약물로 웅담의 주성분인 UDCA, silybum marianum에서 추출한 silymarin은 항섬유화 효능에 대한 보고가 있다(Lacaille와 Paradis, 1993; Boigk 등, 1997).

그 외에도 현재 민간요법으로 농가에서 굼벵이라고 불리는 곤충을 무분별하게 복용하기도 한다. 현재 풍뎅이류의 유충을 ‘굼벵이’라 하여 간질환자들의 민간약으로 사용되고 있는데 굼벵이는 동의보감에도 언급되어 있는 약용곤충으로서, 그 중, 흰점박이꽃무지(*Protaetia brevitarsis*)는 딱정벌레목(Coleoptera), 풍뎅이과(Scarabaeidae) 꽃무지아과(Cetoniinae)에 속하는 17-24 mm 크기의 식식성 곤충으로 우리나라를 비롯하여 중국, 일본 및 시베리아 동부 지역에 서식하고 있다(古川 등, 1977; 張, 1984). 그동안 농진청 및 대학, 그리고 민간에 의해 많은 연구결과를 통해 이에 대한 효능이 검증된 바 있다(황 등 2001; 윤 등, 2007).

약용곤충의 개발은 21C 친환경농업과도 부합하는 농가 사업으로서, 지역생태계에 해를 끼치지 않고, 기존의 기반 시설을 최대한 활용하면서도 경제적으로 영위할 수 있는 새로운 블루오션이다. 따라서, 본 연구는 국내산 약용곤충의 약리효과를 과학적으로 증명하기 위해 국내산 및 중국산 흰점박이꽃무지의 추출물을 이용하여 CCl₄로 유발된 간질환에서의 치료효과를 보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시료의 조제 및 투여

국내산 흰점박이꽃무지(*Protaetia brevitarsis*) 5주령 유충(Pb-KOR)은 대량 계대증식기술을 가진 예천군충연구소에서 선정된 농가에서 구입하였고, 중국산(Pb-CHI)은 경동시장에서 구입한 뒤 음건하여 각각 200 g을 열탕처리 후, 추출물 27.5 g(수득률 13.9%) 및 19 g(수득률 10%)를 얻어 50 mg/kg로 사용하여 매일 2회 경구로 투여하였다.

2. 실험동물 및 처치

4주령의 Sprague-Dawley (SD)계 수컷 랫드를 중앙실험동물(Seoul, Korea)에서 구입하여 7일간의 검역 순화기간을 거친 후 실험에 사용하였다. 투여를 시작할 때의 체중은 175±10 g이었으며, 동물은 온도(23±2°C), 상대습도(50±5%) 및 명암주기(07:00 점등 - 19:00 소등)가 조절되는 환경에서 사육하였고, 시험동물용 고품사료와 여과된 정제수를 자유 섭취시켰다. 실험군은 정상대조군, CCl₄ 단독투여군(CCl₄), Pb-CHI (CCl₄+중국산 음건된 *Protaetia brevitarsis*), Pb-KOR (CCl₄+국산 음건된 *Protaetia brevitarsis*), 양성 대조군으로 silymarin을 3 mg/kg으로 매일 2번 경구 투여군(SIL)으로 구성하여 각 군당 6마리씩 총 30마리를 사용하였다. 정상군은 corn oil을 경구투여하고, 나머지 군들은 간질환 유발을 위해 carbon tetrachloride (CCl₄, Sigma Chemical Co., St Louis, MO)와 corn oil을 1:1로 희석하여 1 mg/kg으로 단회 투여한 다음 3-4일 간격으로 0.5 mg/kg으로 5주 동안 경구 투여하였다. 매주 혈청과 몸무게를 측정하여 간질환의 발병여부를 확인한 뒤 경구투여 3주 후, Pb-CHI, Pb-KOR, SIL 군을 동시에 2주간 경구 투여하였다. 5주 후 회복하여 혈청 및 각 조직을 분리하여 사용하였다.

3. 간세포 및 비장세포에서의 IL-6, TNF- α 및 TGF- β 의 측정

일정량의 간조직으로부터 간세포의 분리는 상온의 HBSS (Hank's Balanced Salt Solution)으로 Kreamer 등(1986)과 Liu 등(2002)에서 제시한 방법을 참고로 하여 수행하였고, 적출된 비장조직에서의 세포분리는 일반적인 방법(Harlow

와 Lane, 1988)으로 분리한 후 이들 세포를 96 well plate를 이용하여 5% 소태아혈청(fetal bovine serum, FBS), 100 U/mL의 페니실린, 100 μ g/mL의 스트렙토마이신(Life technologies, Inc., Gaithersburg, MD)이 포함된 RPMI 1640 배지(Life technologies, Inc.)에 5×10^6 cells/well이 되도록 분주 후, concanavalin A (Con A, Sigma Chemical Co., St Louis, MO) 처리 후 24시간 동안 37°C, 5% CO₂ 조건으로 배양하였다. 세포 상층액에 있는 IL-6, TNF- α , TGF- β 의 농도는 회사의 매뉴얼에 따라서 OptEIA Set (BDBiosciences, San Diego, CA)를 이용하여 측정하였다.

4. 혈청 생화학적 검사

분리된 혈액은 혈청 원심분리용 시험관에 넣고 약 15분간 실온에서 방치한 다음 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 분리하였으며, 이를 -20°C에 즉시 보관하여 분석에 사용하였다. 혈청 생화학적 검사로서 glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), glutamate pyruvate transaminase (GPT), alkaline phosphatase (ALP)를 포함한 간기능 지표와 blood urea nitrogen (BUN)의 활성을 Hitachi 747 (Hitachi Medical Co., LTD, Japan)을 사용하여 분석하였다.

5. 조직병리학적 검사

간 손상의 정도를 검사하기 위하여 간을 적출하여 10% 중성 포르말린 용액에 고정한 일정한 두께(3 mm)로 삭정한 다음, 일반적인 조직처리과정을 거쳐 파라핀에 포매하여 4 μ m의 조직 절편을 제작하였다. 일반적인 염색방법인 hematoxylin-eosin으로 염색한 후 광학현미경하에서 관찰하여 세포의 괴사, 간소엽의 파괴 및 지방변성을 각 군당 6 마리에 대하여 모두 관찰하여 각각에 대한 반정량적인 평가를 위해서는 괴사정도(cell necrosis), 간소엽구조의 파괴(destruction of lobular structure), 지방변성(fatty change), 수포변성, 간 손상 및 간섬유화/간경변의 정도를 검사하기 위하여 각각의 병변 및 섬유화의 면적과 정도를 점수화하였다(Kim 등, 2004): 0점, no lesions & fibrosis; 1점, minimal (<10%); 2점, mild (10-25%); 3점, moderate (25-50%); 4점, severe (>50%).

6. 통계처리

실험결과는 군 별 검사를 수행하여 평균 \pm 표준편차(mean \pm SD)로 표기하였다. 또한, Normal 및 CCl₄ 와 Pb-CHI, Pb-KOR, 양성 대조군 SIL군 간의 통계분석은 one way ANOVA에서 유의한 점이 인정되는 경우 Dunnett's posthoc test를 통해서 통계적 유의성을 검증하였다.

결 과

1. 흰점박이꽃무지 추출물에 의한 간세포 및 비장세포에서의 IL-6, TNF- α 및 TGF- β 감소

CCl₄로 간질환을 5주 동안 유발시키면서 매주 혈청과 몸무게를 측정하여 간질환의 발병여부를 확인 후 3주부터 2주 동안 국내산 흰점박이꽃무지(*Protaetia brevitarsis*) 5주령 유충(Pb-KOR)의 추출물과 중국산(Pb-CHI) 추출물 및 현재 치료제로 사용되고 있는 silymarin (SIL)을 경구투여하여 치료효과를 보았다. 간조직과 비장 조직의 세포에서 간조직의 섬유화에 관련된 사이토카인인 IL-6, TNF- α 와 TGF- β 를 측정된 결과, CCl₄군은 이들 사이토카인의 수치가 정상군보다 증가하였으며, 치료군인 Pb-CHI, Pb-KOR, SIL군은 CCl₄군보다 IL-6, TNF- α 와 TGF- β 가 감소를 보였다. 특히, Pb-KOR군이 Pb-CHI, SIL군보다 IL-6, TNF- α 와 TGF- β 가 모두 유의한 감소를 보였다($p < 0.01$) (Fig. 1, 2).

2. 흰점박이꽃무지 추출물에 의한 혈청 간기능 지표효소의 활성도 감소

혈청 생화학적 검사로서 간기능 지표인 혈청 내 GOT, GPT, ALP활성 및 배설기능과 연관된 BUN을 측정된 결과는 Table 1과 같다. 혈청 내 GOT, GPT, ALP활성은 간세포의 변성이나 괴사를 반영하는 효소로서 간조직 손상 시 다량 유출된다(Takeda 등, 1964). 정상군과 비교하여 CCl₄군의 모든 수치가 증가되었으며, 치료군인 Pb-CHI, Pb-KOR, SIL군은 CCl₄군에 비해 모두 감소를 보였으나, GOT, GPT 경우, Pb-KOR에서 유의한 감소를 보였고, ALP, BUN은 SIL군이 유의한 감소를 보였다.

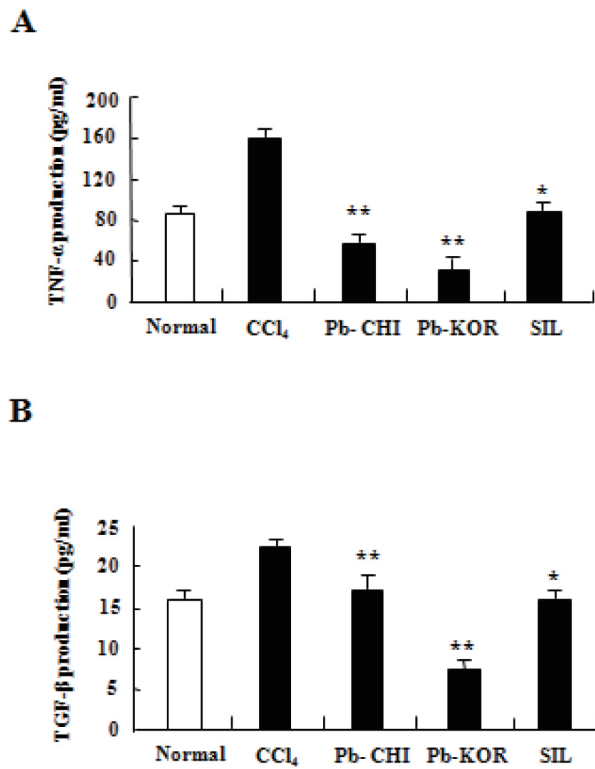


Fig. 1. Cytokine level of liver cells in the experimental groups. The cells were separated in the liver. The supernatant was collected and analyzed by ELISA as described in the Materials and Methods section. Data are expressed as the means±SD of three independent experiments, and are presented as cytokine concentration * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ are assessed as significant differences between the CCl₄-treated group and the group treated with Pb-CHI, Pb-KOR or SIL. Pb-CHI (CCl₄ + *Protaetia brevitarsis* in China), Pb-KOR (CCl₄ + *Protaetia brevitarsis* in Korea), and SIL (CCl₄ + 0.35% silymarin).

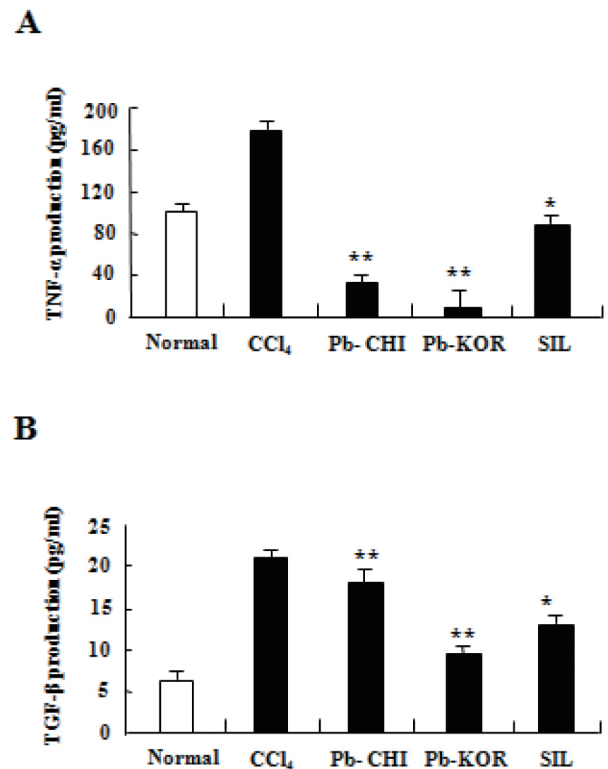


Fig. 2. Cytokine level of splenocytes in the experimental groups. The cells were separated in spleen. The supernatant was collected and analyzed by ELISA as described in the Materials and Methods section. Data are expressed as the means±SD of three independent experiments, and are presented as cytokine concentration * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ are assessed as significant differences between the CCl₄-treated group and the group treated with Pb-CHI, Pb-KOR or SIL.

3. 흰점박이꽃무지 추출물에 의한 간조직의 형태학적 변화에 미치는 효과

본 연구에서 정상군의 경우 간소엽구조의 중앙에 중심정맥이 위치하고, 간세포들이 간소엽의 가장 자리를 향해 방사형으로 코드 모양의 배열을 보였으며, 문맥과 간소엽구조의 경계가 잘 이루어진 정상적인 구조를 보였으나 일부 개체에서 지방변성이 관찰되었다. 이러한 지방변성과 수포변성은 정상동물에서도 약 10~15% 정도 관찰된다고 보고되고 있다. 이는 정상적인 범위 내에서의 변화여서 유의한

변화로 보기는 어렵다고 하겠다. 이에 반해 CCl₄군에서는 간세포는 일부 세포핵의 과염색상, 세포질에 호산성 변화 및 공포변성 중에서 사염화탄소 투여 시에 대표적으로 관찰되는 지방변성(fatty change)과 수포변성(hydropic change)이 특징적으로 관찰되었다. 치료군인 Pb-CHI군, Pb-KOR, SIL군은 CCl₄군에서 보였던 세포핵의 과염색상, 세포질의 호산성 변화 및 공포형성, 수포변성과 지방변성 등을 포함하여 유의한 소견들이 개선되는 경향을 보였다. 특히, Pb-KOR군은 Pb-CHI군에 비해 조직학적 소견에서 두드러진 개선 효과를 보였다(Fig. 3). 각각에 대한 정량적인 평가를

Table 1. Effect of *Protoetia brevitarsis* extract on GOT, GPT, ALP and BUN in CCl₄ treatment male SD rats

Groups (n=6)	Enzymes and BUN			
	GOT	GPT	ALP	BUN
Normal	301.5±60	70.8±15	831.3±17	19.1±7
CCl ₄	1008.8±66 [†]	1210.3±5 [‡]	1739.3±21 [†]	21.2±4
Pb–CHI	563.7±88	122.7±15	971.5±15	17.3±5
Pb–KOR	350.8±50 ^{**}	97.2±11 [*]	1050.5±25	17.3±3
SIL	412.5±23	105.7±13 [*]	924.8±14 [*]	14.9±9 ^{**}

Data were obtained from 6 animals for each group and expressed in mean±SD. † and ‡ were *p*<0.05 and *p*<0.01, respectively when compared with the normal group; * and ** were *p*<0.05 and *p*<0.01, when compared with the CCl₄ group. Unit for nmoles/mg protein/min.

Table 2. Effect of *Protoetia brevitarsis* extract on the hepatic lesions of rats administered with CCl₄

Groups(n=6)	Lesions (maximum score 4.00)
Normal	0.04±0.16
CCl ₄	3.45±0.78 [‡]
Pb–CHI	1.54±0.71 ^{‡**}
Pb–KOR	1.29±0.74 ^{‡**}
SIL	0.82±0.12 ^{‡**}

† and ‡ were *p*<0.05 and *p*<0.01, respectively when compared with the normal group; * and ** were *p*<0.05 and *p*<0.01, when compared with the CCl₄ group.

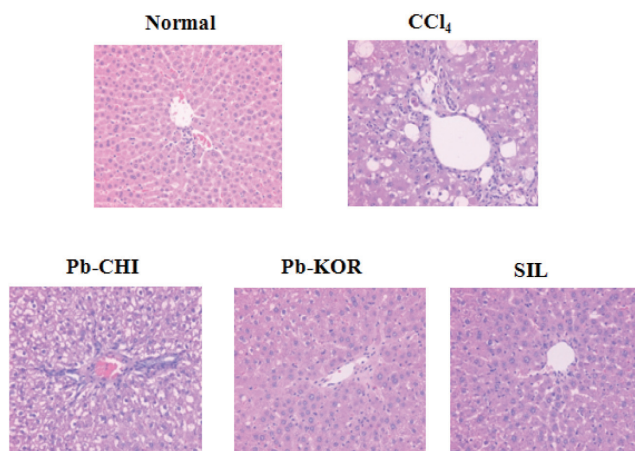


Figure 3. Rat liver sections stained with hematoxylin and eosin for evaluation of general morphology. Pb–CHI (CCl₄ + *Protoetia brevitarsis* in China), and D. Pb–KOR (CCl₄ + *Protoetia brevitarsis* in Korea), and SIL (CCl₄ + 0.35% silymarin) groups (x200).

위해서는 재료 및 방법에서 제시한 바와 같이 정상화한 결과, 간세포의 괴사, 간소엽구조의 파괴, 지방 및 수포변성을 포함하여 간세포의 손상과 섬유화 정도 등에서는 CCl₄군에 점수가 높은 반면, 치료군인 Pb–CHI군, Pb–KOR군, SIL군 모두 유의하게 개선되는 경향을 보였다(Table 2).

고 찰

곤충은 예로부터 한약재로 이용되어 왔으며 약재로 사용하는 종류는 굽벵이, 누에, 매미 허물, 동승하초, 지네 등 약 30여종에 달한다. 일반적으로 흰점박이꽃무지(*Protoetia brevitarsis*)의 유충은 민간요법으로 만성간염이나 간암과 같은 각종 간질환 및 시력감퇴, 산후풍, 악성종기, 구내염, 파상, 종기 등의 성인병 치료에 탁월한 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 황 등(2001, 2005)에 의하면 흰점박이꽃무지의 추출물이 식이하는데 독성이 없고, 간보호 기능과 지질 개선 효과가 있어서 간질환의 예방 효과에 대해 보고한 바 있다. 본 연구는 약용곤충의 개발의 일환으로 국내산 및 중국산 흰점박이꽃무지의 추출물을 이용하여 CCl₄로 유발된 간질환에서의 치료효과를 보고자 하였다. 간암을 포함하여 간질환시 면역학적으로 염증성 사이토카인인 TNF- α , TGF- β 의 과도한 증가를 보이며 이들은 간 조직의 섬유화 및 다양한 조직병변을 일으킨다(Tian 등, 2006; Xu 등, 2009). 본 연구를 통해 CCl₄로 유발된 간질환의 실질조직인 간조직과 우리 몸의 면역을 담당하는 비장 조직의 세포를 통해 이들 사이토카인이 증가됨을 확인 할 수 있었다. 국내산 흰점박이꽃무지의 추출물을 경구투여한 군인 Pb–KOR군이 중국산 흰점박이꽃무지 추출물 투여군 Pb–CHI 및 현재 치료제로 쓰이는 silymarin 경구투여군 SIL군보다 TNF- α , TGF- β 의 분비를 유의하게 억제시켰다(Fig. 1, 2).

CCl₄는 cytochrome P-450에 의해 독성이 강한 대사물이 되어 결국 간세포의 지질과산화물을 일으키고 중심정맥 주위에 지방변성 및 괴사를 일으킨다. 이러한 대사물이 간 microsomes의 막단백 thiol와 강하게 결합하여 막의 지질과산화 반응을 촉진하여 장애를 일으킴으로써, 단백질 합성 억제, 혈중으로 GOT, GPT 및 lactate dehydrogenase (LDH) 등을 유리시키는 것으로 알려져 있다(de Groot와 Noll, 1986). Table 1과 같이, 매주 혈청을 분리하여 혈청 내 생화학적 분석결과, 정상군과 비교하여 CCl₄군의 모든 수치가 증가되었으며, 치료군인 Pb-CHI, Pb-KOR, SIL군은 CCl₄군에 비해 모두 감소를 보였으나, GOT, GPT 경우, Pb-KOR군에서 유의한 감소를 보였고 ALP, BUN은 SIL군이 유의한 감소를 보였다. 이들은 간세포 및 비장 세포의 발현된 TNF- α 및 TGF- β 의 생산 억제와 연관될 것으로 사료된다. 간질환을 유도하기 위해 사염화탄소의 반복 투여 시 나타나는 전형적인 조직학적 변화를 관찰하면, 지방변성, 섬유화, 다발성으로 간세포의 부분괴사, 세포 크기와 모양이 불규칙해지고, 세포크기의 다양성, 변성된 세포주위로의 단핵염증세포의 침윤, 소엽 중심부위의 일부 증가되고 또한, 간소엽구조의 소실 등 대부분의 개체들에서 대부분의 개체들에서 부분적으로 관찰되었다. 하지만, 치료군인 Pb-CHI군, Pb-KOR군, SIL군은 CCl₄군에서 보였던 세포핵의 과염색상, 세포질의 호산성 변화 및 공포형성, 수포변성과 지방변성 등을 포함하여 유의한 소견들이 개선되는 경향을 보였다. 이것은 섬유화 및 염증성 질환에서 증가하는 TNF- α 및 TGF- β 의 생산 억제가 이들의 증상을 개선하는데 영향이 있을 것으로 생각된다. 또한, 혈청내 생화학적 분석을 통해 간조직의 괴사 및 손상 시 다량 유출되는 GOT, GPT, ALP활성이 간질환이 유발된 CCl₄군에 비해 감소된 것을 볼 때 조직학적으로 간질환의 개선을 뒷받침해 주고 있다. 본 연구를 종합하여 볼 때, 참검정풍뎀, 점박이꽃무지, 흰점박이꽃무지 등에 의한 간기능 보호효과와 지질대사의 개선효과를 보고하였으며, 반면에 흰점박이꽃무지를 이용하여 간기능 및 간의 이상 물질대사 기능에서 유의한 효과가 없는 것도 보고된 바 있다(Park 등, 1998; Lee 등 2001; 황 등 2005). 기존 보고를 통해 밝혀진 혈청 내 생화학적 분석 및 조직학적 분석을 통한 간의 개선 효과뿐만 아니라, 면역학적으로 간의 질

질세포와 비장세포에서의 간조직 손상 및 섬유화에 관계되는 TNF- α 및 TGF- β 의 생산 억제를 통해 국내산 흰점박이꽃무지 유충의 간손상에 대한 개선 효과를 밝혔다. 특히, Pb-KOR군은 Pb-CHI군에 비해 조직학적 조건에서 두드러진 개선 효과를 보였다는 것은 국내산 약용곤충의 개발에 박차를 가할 수 있을 것이라 사료된다. 앞으로, 국내산 흰점박이꽃무지 유충의 약리효과에 대해 구체적인 기전연구가 필요하리라 본다.

참고문헌

1. de Groot H, Noll T. The crucial role of low steady state oxygen partial pressures in haloalkane free-radical-mediated lipid peroxidation. Possible implications in haloalkane liver injury. *Biochem Pharmacol.* 1986, 35:15-19.
2. Kreamer BL, Staecker JL, Sawada N, Sattler GL, Hsia MT, Pitot HC. Use of a low-speed, iso-density percoll centrifugation method to increase the viability of isolated rat hepatocyte preparations. *In Vitro Cell Dev Biol.* 1986, 22:201-211.
3. Lee HC, Hwang, SG, Kwang YK, Sohn HO, Moon JY, Lim HB, Lee DW. Influence of Protactia brevitarsis extract on liver damages induced by carbon tetrachloride and ethanol in rats. *Korea J Life Sci.* 2001, 11:405-414.
4. Liu XL, Li LJ, Chen Z. Isolation and primary culture of rat hepatocytes. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2002, 1:77-79.
5. Li WQ, Li YM, Guo J, Liu YM, Yang XQ, Ge HJ, Xu Y, et al. Hepatocytic precursor (stem-like) WB-F344 cells reduce tumorigenicity of hepatoma CBRH-7919 cells via TGF-beta/Smad pathway. *Oncol Rep.* 2010, 23:1601-1607.
6. Park SR, Yoon SH, Cha SE, Kim BH, Choi JS. Effect of Holotrichia diomphaliabates on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *J Korean Soc Hygienic Sci.* 1998, 4:27-37.
7. Pozadzides JV, Pro B. Oncogene Hepatosplenic T-cell lymphoma and TNF- α inhibitors. *Expert Rev Hematol.* 2009, 2:611-614.
8. Takeda Y, Ichihara A, Tanioka H, Inove H. The biochemistry of animal cells, the effect of corticosteroids on leakage of enzyme from dispersed rat liver cell. *J Biol Chem.* 1964, 239:3590-3596.
9. Tian Y, Jochum W, Georgiev P, Moritz W, Graf R, Clavien PA. Kupffer cell dependent TNF-alpha signaling mediates injury in the arterialized small-for-size liver transplantation in the mouse. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006, 103:4598-3603.

10. Thenappan A, Shukla V, Abdul Khalek FJ, Li Y, Shetty K, Liu P, Li L, et al. Loss of transforming growth factor β adaptor protein β -2 spectrin leads to delayed liver regeneration in mice. *Hepatology*. 2011, 53:1641-1650.
11. Wang B, Hsu SH, Majumder S, Kutay H, Huang W, Jacob ST, Ghoshal K. TGF beta-mediated upregulation of hepatic miR-181b promotes hepatocarcinogenesis by targeting TIMP3. *Oncogene*. 2010, 25:1787-1797.
12. Xu MQ, Yan LN, Gou XH, Li DH, Huang YC, Hu HY, et al. Zinc finger protein A20 promotes regeneration of small-for-size liver allograft and suppresses rejection and results in a longer survival in recipient rats. *J Surg Res*. 2009;152:35-345.
13. 윤수홍, 김덕현, 이상규, 김주현, 서영민, 강미정, 전대원 등. 사염화탄소에 의해 유도된 흰쥐의 간장해에 미치는 지잠의 보호효과. *대한약학회지*. 2007, 51:277-284.
14. 해리슨내과학 편찬위원회 편. *내과학*. 서울. 도서출판 정담. 1997, 1610-1611.
15. 황석영, 이영구, 황상구, 임홍비, 김용의, 장경훈, 전병훈. 흰쥐에서 흰점박이꽃무지의 아만독성시험. *동의생리병리학회지*. 2001, 15:703-707.
16. 황석연, 김윤배, 이상한, 윤치영. 사염화탄소로 유발된 랫드의 간 손상에 대한 흰점박이꽃무지(*Protoactia brevitarsis*) 추출물의 예방효과. *동의생리병리학회지*. 2005, 19:1337-1343.
17. 홍승권, 김지훈, 이영선, 윤아일린, 이현정, 황진기, 정은석, 등. B형간염바이러스 감염과 췌장암 발생의 연관성에 관한 연구. *대한간학회지*. 2010, 16:49-56.
18. 古川晴男, 長谷川仁, 奥谷禎一. *원색곤충백과도감*. 1977, p573-574. 集英社.
19. 張芝利. *중국경제곤충지*. 중국과학원 중국동물지 편찬위원회, 1984, 28책. 과학출판사. 초시목.