

전호, 파고지 추출물의 신생혈관 억제 효과 연구

차 민* · 오완수

†전라남도해양수산과학원(연구사) · 목포임성초등학교(교사)

Studies on *Anthrisci radix*, *Psoraleae semen* Extract Based on Anti-angiogenic Effect

Min CHA[†] · Wan-Soo OH

*Jeollnamdo Ocean&Fishery Science Institute(ocean fishery researcher) · Mokpo Imsung Elementary School(teacher)

Abstract

Anti-angiogenesis was carried out for investigating of anti-cancer mechanism from natural products such as *Anthrisci radix* and *Psoraleae semen*. The formation of angiogenesis was completely inhibited by *A. radix* and *P. semen* in a dose-dependent manner. Blood vessel formation of Zebra fish was clearly inhibited with *A. radix* and *P. semen* according to reaction time, while vessel formation for control and DMSO group were not inhibited. From the above results, *A. radix* and *P. semen* extracts based on anti-angiogenic.

Key words : Angiogenesis, *Danio rerio*, *Anthrisci radix*, *Psoraleae semen*

I. 서론

혈관신생(angiogenesis) 과정의 경우 기존의 혈관에 존재하는 혈관내피세포가 분열을 일으켜 혈관내피세포와 이를 둘러싸고 있는 주변 세포들(pericytes)에서 여러 단백질들이 분비되어 기존의 혈관에서 새로운 혈관들이 뻗어나가게 되는 것이며, 혈관 형성은 단순한 혈관내피세포의 성장뿐 아니라 내피세포의 기저막(basement membrane) 침투, 이동(migration)과 분화 그리고 모세혈관 형성 등 다양하고 복잡한 일련의 과정을 필요로 한다.

또한, 신생혈관 형성에는 조직 분해 효소의 활성화 등이 필요하며, 이러한 일련의 과정은 암세포의 침투(invasion) 과정과 매우 유사하다.

가장 잘 알려진 혈관 형성 촉진 인자는 혈관내피세포 성장인자(vascular endothelial growth factor, VEGF)이다. VEGF는 32-44kDa의 크기로 거의 모든 세포에서 분비되며, 종양의 침투성과 깊은 관계가 있다(Takahashi et al., 1995).

혈관신생의 비정상적인 과다함은 당뇨병성 관절염, 건선, 악성종양 등 다양한 질병의 발병과 밀접한 관련이 있다.

이렇듯 혈관은 생체 내 모든 조직에 산소, 영양분의 공급 및 노폐물 처리를 담당하는 필수적인 통로이다(Carmelit et al., 2000).

특히 문제가 되는 것은 암에 걸렸을 경우 암세포에게도 산소와 영양분을 공급하는 루트가 되어 암 종양이 자라거나 퍼지게(metastasize) 하는 도구가 된다.

† Corresponding author :  jvt2001@korea.kr

과거 20여 년간 종양의 성장과 전이의 발생은 신생혈관의 발육에 의존한다는 사실이 많은 연구에서 밝혀졌다. 암세포가 혈관신생을 하지 못하거나, 혈관으로 출입을 할 수 없으면 대부분의 암은 직경이 1~2mm 이상을 넘게 자라지 못하고 원발성 위치에 국소화된 채로 남아있을 것이다(Folkman, 1992). 하나의 혈관세포는 수백 개의 암세포에 영양분과 산소를 공급하기 때문에 하나의 혈관세포의 억제를 통해서 많은 암세포를 억제하는 효과적인 치료방법이 될 수 있다.

동물 실험 모델인 제브라피쉬(*Danio rerio*)는 몸길이가 3cm 정도의 작은 열대성 담수어으로써 빠른 성장과 3개월의 짧은 성 성숙 기간, 광주기에 의한 산란 및 체외 수정을 하여 인위적으로 산란 시기를 조절할 수 있으며, 암컷은 1주일 간격으로 200~300개의 알을 산란하여 반복 실험이 가능하고, 발생 배가 투명하여 일반 해부현미경 하에서 발생의 모든 과정의 관찰이 가능하며, 빠른 발생 속도로 수정 후 24시간 이내에 심장의 박동과 혈액순환을 관찰할 수 있고(Streisinger et al., 1986), 3일이면 완전한 성체가 형성되며 많은 유전자에서 사람, 마우스와 같은 포유류와 유사한 genomic structure를 가지고, 아미노산 배열에서도 90% 정도의 높은 상동성을 가진다(Fishman, 2001). 혈관 형성(vasculogenesis)은 다른 척추동물들과 마찬가지로 mesoderm으로부터 분화된 hemangioblast가 그 후에 혈관내피세포의 전구세포인 angioblast에서 혈관내피세포로 분화되고, 배아의 혈관은 빠른 속도로 전 범위에서 만들어져 특정 기관이 만들어지는 시기에 맞춰 형성되며, 수정 후 22시간이 지난 발생 배에서는 대동맥(dorsal aorta: DA)과 대정맥(axial vein: AV)으로 구성된 기본적인 혈관계 형성(vasculogenesis)이 이루어져 수정 후 24시간이 지난 제브라피쉬 발생 배에서는 혈관신생(angiogenesis)으로 취급되어지는 체절 간 혈관(intersegmental vessel)들이 형성되기 시작하고(Lawson ND et al., 2002), 이후 제

브라피쉬 발생 배에서는 체절 간 혈관 형성뿐 아니라 여러 형태의 혈관신생 과정(angiogenesis)이 일어나게 돼 수정 후 72시간이 지난 발생 배에서는 혈관신생 과정 형태 중의 하나인 subintestinal vein(SIV)이 형성되는 제브라피쉬는 척추동물로써 사람과 유사한 심혈관계를 가지고 있으며 수정란에서 혈관 형성 과정에 관여하는 많은 분자들이 다른 척추동물과 유사하여 혈관 및 발생 연구에 유용한 생물 모델로 사용되고 있다(Roman et al., 2000).

전호(*Anthriscus radix*)는 산형과에 속하는 바다나물 또는 백화전호의 뿌리를 말한다. 맛은 조금 쓰며, 심장기능 강화와 허혈성 심근 손상을 억제하고, 거담 작용, 혈소판 응고 억제 작용, 소염, 소종 작용, 항 혈전 작용, 항산화 작용, 혈중지질 저하 작용, 기관지 확장 작용, 고혈압 등에 효능이 있다고 보고되어 있다(Kozawa M, 1978).

파고지(*Psoraleae semen*)는 콩과에 속하는 한해살이 개암풀로 파고지 종자는 중국과 한국 등지에서 요통, 이노 질환, 염증 질환, 피부 질환 등에 약용식물로 널리 이용되어 온 자생식물이다. 맛은 맵고 조금 쓰며, 야간 빈뇨를 개선하고, 육종의 성장 억제, 결핵균의 증식 억제, 항암효과, 항산화 효과, 간 보호 작용이 있다고 보고되어 있다(Pae HO, 2001).

본 연구에서는 다양한 생리적 활성을 갖는 전호 및 파고지 추출물을 제브라피쉬 부화 자어 사육수에 농도별로 첨가하여 초기 발생 단계에서의 신생혈관 생성에 미치는 영향을 조사하고, 추출물의 신생혈관 형성 억제력을 알아보기 위해 HUVECs(태반 내피세포)을 이용한 신생혈관 형성 억제효과 실험을 통해 부작용이 적고 효과적인 암세포 증식 억제 후보물질로써의 이용 가능성을 살펴보았다.

II. 연구 방법

1. 천연물의 Et-OH 추출 및 동결건조

실험에 사용된 지역 천연 산물은 여수 지역 한약 판매처에서 구입하여 사용하였다.

재료 600g에 3,000ml의 70% Ethanol로 5시간 동안 환류, 추출(GLOBAL LAB Heating Mantle) 후, 한약 거름망으로 1차 여과를 거쳐 Filter paper(Advantec)를 이용해서 2차 여과한 다음, 이 물질이 잔존하지 않은 상태에서 rotary evaporator (EYELA Digital Water Bath SB-100)를 이용 농축하여 70% Ethanol 추출물 전호 8.58g, 파고지 11.23g을 얻었다. 추출 농축된 시료는 동결건조 과정을 거쳐 분말화한 후, DMSO (Dimethyl sulfoxide, sigma)에 녹여 각 농도별로 희석하여 실험에 사용하였다.

2. 세포주의 배양

HUVECs(Human umbilical vein endothelial cells)은 Young Science(서울)로부터 3~5세대의 세포를 분양받아 신생혈관 제어, 세포부착 억제 효과 및 작용 기전의 규명을 위하여 western blot에 사용하였고, 세포의 성장을 위해 EBM-2(Lonza) medium에 Hydrocortisone, hFGF-B, VEGF, R3-IGF-1, Ascorbic acid, hEGF, GA-1000, Heparin의 8가지 물질을 첨가하였으며, 배지에 FBS(Lonza)가 2% 되게 첨가하여 T-75 flask(Nunc)에 세포 부착을 쉽게 하고 matrix 형성을 위해 2% gelatin (Sigma)을 코팅한 후, 세포를 분주 후 37°C, 5% CO₂ Incubator(Forma Scientific)에서 배양하였다.

배지는 이를 간격으로 교환하였으며, 세포가 80% 이상 confluence에 도달하였을 때 본 실험에 사용하였다.

3. MTT assay

추출물의 세포독성을 시험하기 위해 MTT

assay를 실시하였다. MTT assay는 세포의 성장 정도를 알아보는 방법으로, MTT 시약은 살아있는 세포에서는 비수용성의 formazan 결정체로 환원된다. 환원되어 생성된 결정체를 DMSO로 녹여 흡광도를 측정하여 살아있는 세포를 정량하였다.

먼저, T-75 flask에 전 배양한 세포를 96 well plate에 1×10^4 cell/well이 되게 분주한 다음 최종 volume을 200 μ l로 맞추고 24시간 동안 배양 후, 배지를 제거한 다음 PBS로 1회 세척하였다. 세척 후, 배지를 넣고 각 농도별로 추출물을 처리한 다음 48시간 동안 37°C, 5% CO₂ 조건하에서 배양하였다. 48시간 뒤, 배지를 조심히 제거한 후 미리 제조된 0.5% MTT 시약(Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide, Sigma)을 배지로 10배 희석한 다음 각 well에 100 μ l씩 처리한 후 37°C, 5% CO₂ 조건하에서 3시간 30분 배양하였다. 그 다음, 배지를 제거하고 DMSO를 각 well에 100 μ l씩 분주한 후 10분정도 진탕한 다음 microplate reader(UVM-340, Asys) 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

4. 신생혈관 형성 억제효과 실험

신생혈관 형성 억제 실험은 24 well cell culture plate(SPL)에 Matrigel Matrix(BD)를 150 μ l씩 분주하여 37°C, 5% CO₂ 조건하에서 30분간 고체화한 다음, 미리 T-75 flask에 전 배양한 HUVECs를 각 well 당 2.5×10^4 cell 이 되도록 분주하여 37°C, 5% CO₂ 조건하에서 약 2시간 동안 tube formation이 시작되는 시점까지 배양하였다.

그 후 추출물을 농도별로 처리한 후, 약 4시간 동안 더 배양하여 형성된 혈관을 역상 현미경(TS-100, Nikon) 하에서 연결된 디지털카메라(Coolpix 4500, Nikon)로 well 당 5면에 대하여 사진을 촬영하였고, Scion Image program(NIH, USA)을 이용하여 촬영된 이미지에 직접 선을 긋는 방식으로 형성된 혈관의 길이를 측정하여 Anti-angiogenesis 효과를 판단하였다.

5. Western blot

추출물의 신생혈관 억제 정도를 분자 수준에서 확인하기 위해 western blot을 실시하여 신생혈관 형성 발현과 관련된 신호전달분자(signal molecules)인 VE-cadherin(SC-6458), Akt(SC-8312)를 사용하여 단백질 수준에서 신호전달 제어 정도를 확인하였다.

6. 제브라피쉬 혈관 촬영

제브라피쉬는 적정 생육온도인 28.5℃의 수온에서 사육하였고, 먹이로는 브라인 슈림프와 인공사료를 공급하였다.

제브라피쉬의 산란과 수정은 빛에 의해 유도되므로 낮 14시간, 밤 10시간의 명암을 유지하였다.

전날 오후에 암, 수 한 쌍씩 전용 mating cage에 함께 넣어 다음날 아침 빛을 받아 자극된 암컷과 수컷은 산란과 함께 체외수정이 동시에 진행되었다.

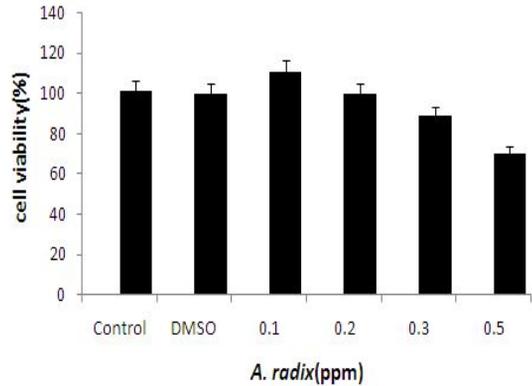
수정란은 Ringer's solution으로 씻어 petri dish에 옮기고 28.5℃ 배양기에서 발생시켰다. 부화 직후 자어의 사육수에 전호 및 파고지 추출물을 각각의 petri dish에 농도별로 첨가하였다. 구간별 10마리씩 사육하였고, 일정 경과 시간에 맞추어 제브라피쉬를 ms-222로 마취시킨 후 꼬리지느러미 혈액순환 여부를 디지털 현미경(DIMIS-SR)으로 촬영하였다.

III. 연구 결과

1. MTT assay

가. 전호 추출물의 MTT assay

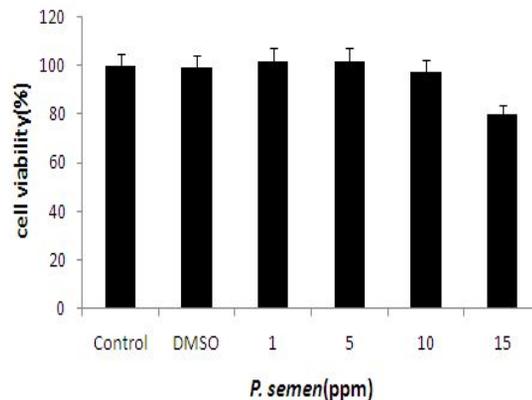
전호의 세포독성 정도를 확인한 결과 0.1ppm까지는 세포독성을 보이지 않았으나 0.2ppm 이상에서는 확실한 세포 수 감소를 보였다.



[Fig. 1] Cytotoxicity on HUVECs with different concentration of *A. radix*. HUVECs were seeded onto a 96 well plate and treated with various doses (0.1, 0.2, 0.3, 0.5 ppm) of *A. radix* for 48 hours. Then MTT solution (0.5%, 100 µl/well) was added to the cells and 96 well plate was incubated for 3 and half hours at 37 °C in a humidified atmosphere containing 5% CO₂. After then, medium was removed and DMSO (100 µl/well) was treated for 10min. The 96 well plate was measured by microplate reader at 540nm.

나. 파고지 추출물의 MTT assay

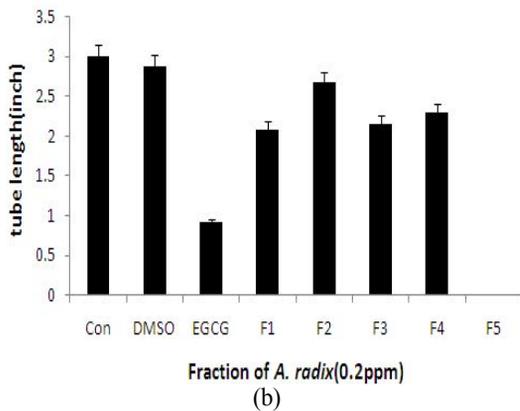
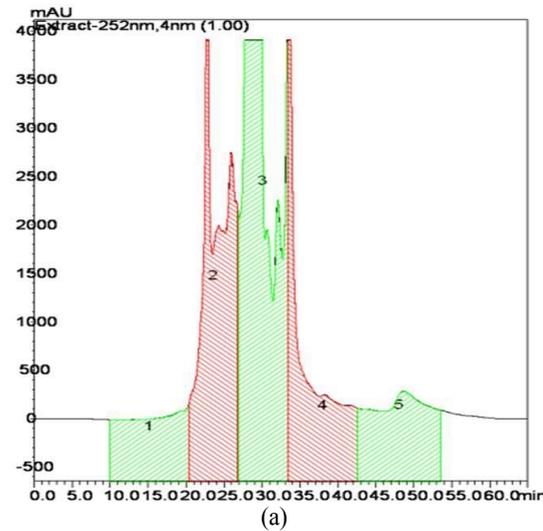
파고지의 세포 독성 정도를 확인한 결과 10 ppm 이상에서는 확실한 세포 수 감소를 보였다.



[Fig. 2] Cytotoxicity on HUVECs with different concentration of *P. semen*.

2. 천연산물의 신생혈관형성 억제효과

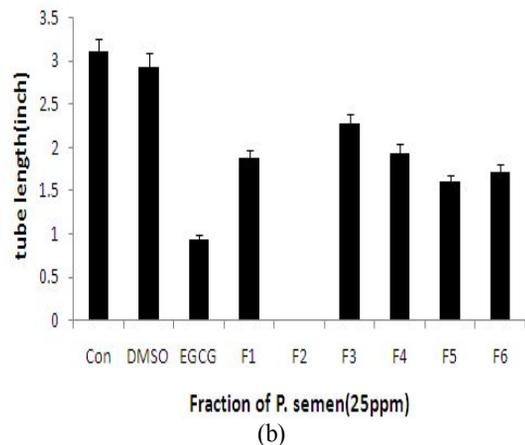
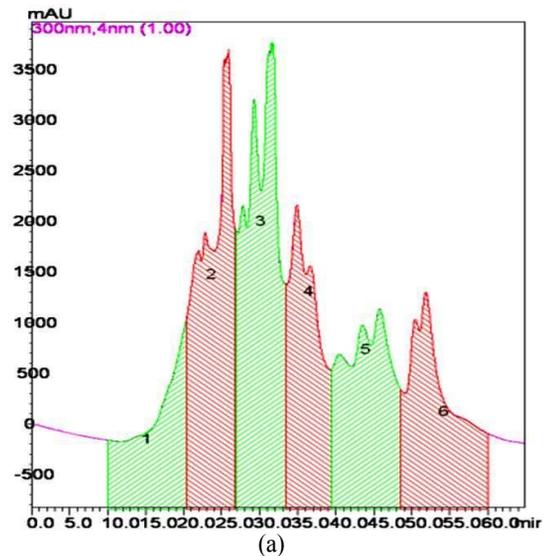
가. 전호추출물의 신생혈관형성 억제효과
전호 추출물의 fraction에 따른 신생혈관 형성 억제 실험 F1, F2, F3, F4 및 F5의 fraction을 동일 농도(0.2 ppm)로 하여 신생혈관 형성 억제 실험을 한 결과 fraction 5(F5)에서 항암효과가 우수하다고 검증된 EGCG(녹차카테킨 성분)보다 뛰어난 신생혈관 형성 억제 활성을 확인하였다.



[Fig. 3] Fractionated chromatogram of each natural product extract and Anti-Angiogenic effect with fractions of *A. radix*(0.2 ppm). The tube length was measured by scion image program from NIH.

나. 파고지추출물의 신생혈관형성 억제효과
파고지 추출물의 fraction별 신생혈관 형성 억제 활성을 조사하였다.

F1, F2, F3, F4, F5 및 F6의 동일 농도(25 ppm)로 하여 신생혈관 형성 억제 실험을 수행한 결과 F2의 fraction에서 신생혈관 형성이 완벽히 억제 되는 것을 확인하였다.



[Fig. 4] Fractionated chromatogram of each natural product extract. and Anti-Angiogenic effect with fractions and concentration of *P. semen*.

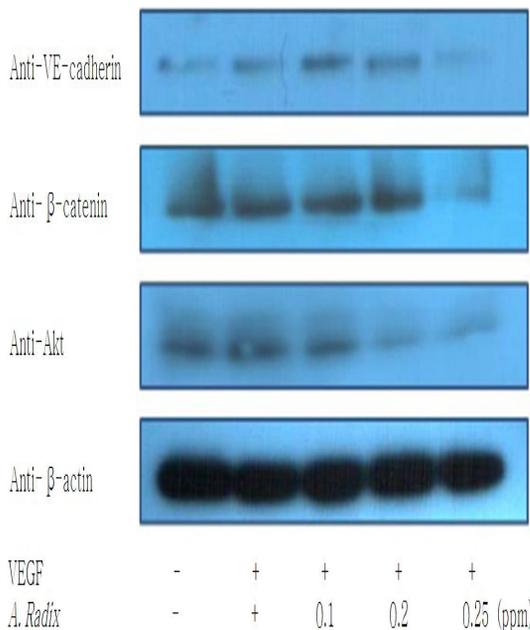
3. HUVECs의 Western blot

가. 전호 추출물 처리에 의한 VE-cadherin 및 Akt 발현량 변화

신생혈관형성 억제효과를 분자 수준에서 확인하기 위해 western blot을 실시하였다.

신호 분자인 VE-cadherin 과 Akt 단백질을 이용하여 전호의 농도 증가에 따른 단백질 발현 패턴을 분석한 결과 전호 추출물 농도 증가에 따라 단백질 발현 양이 감소하였다.(농도 증가에 따라 밴드 색상이 희미해짐)

대조군 β -actin은 전호 추출물 농도 증가에 따른 단백질 발현 양 변화가 없었다.(밴드 진하기가 일정)



[Fig. 5] *A. radix* inhibits the interaction of PI3-kinasewith VE-cadherin and Akt upon cell activation with VEGF. HUVEC extracts were immunoprecipitated with PI3-kinase anti boies and immunoblotted with antibodies to VE-cadherin and Akt. Cells were starved during supplementation for 24 hr before stimulation with VEGF (50 ng/mL).

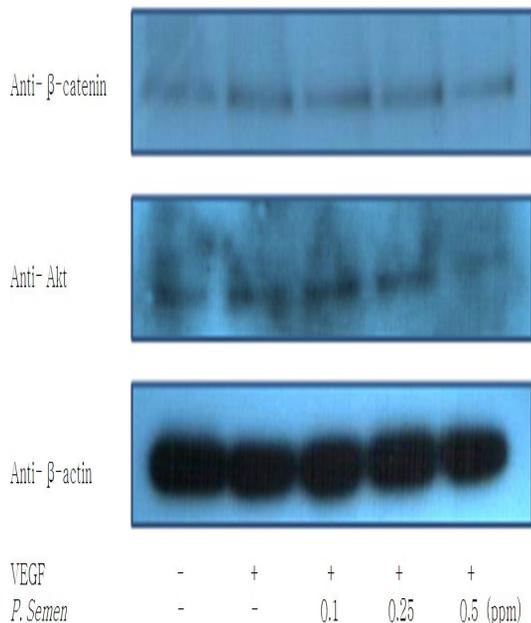
나. 파고지 추출물 처리에 의한 VE-cadherin 및 Akt 발현량 변화

파고지 추출물의 신생혈관 형성 억제효과를 확인하기 위해 western blot으로 VE-cadherin 단백질과 PI3-kinase의 downstream에 있는 Akt 단백질의 발현 양 변화를 조사하였다.

그 결과 파고지 추출물 농도가 증가함에 따라 두 단백질의 발현 양이 감소하는 것을 확인하였다.(농도 증가에 따라 밴드 색상이 희미해짐)

대조군 β -actin은 파고지 추출물 농도 증가에 따른 단백질 발현 양 변화가 없었다.(밴드 진하기가 일정)

이는 파고지 추출물에 의해 Akt 단백질의 인산화가 저해되어 내피세포의 증식, 유전자의 발현이 억제된 것으로 예상된다.

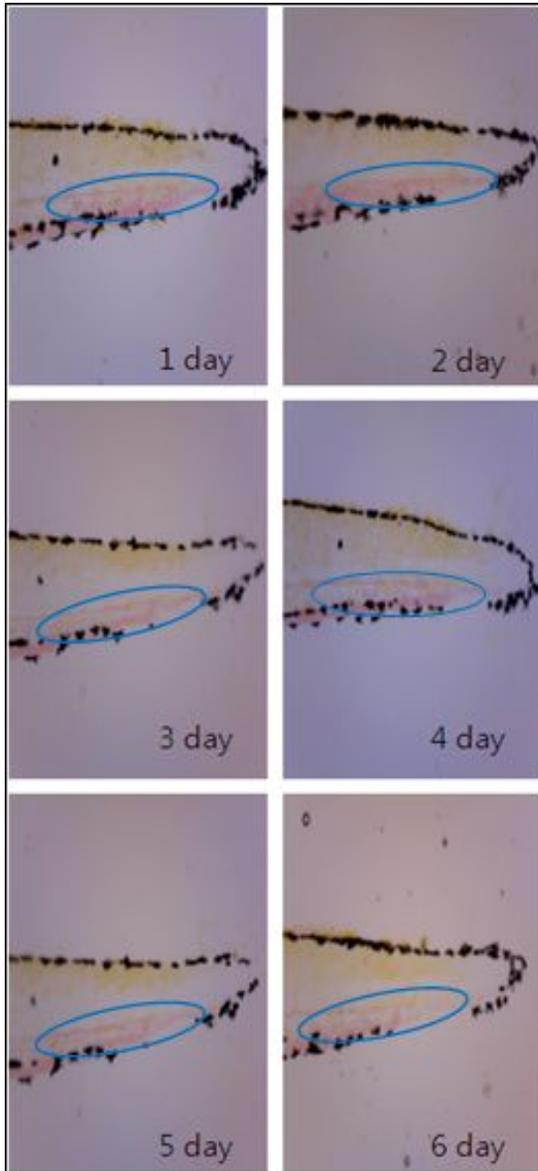


[Fig. 6] *P. semen* inhibits the interaction of VE-cadherin with Akt upon cell activation with VEGF.

4. 제브라피쉬 혈관 촬영

가. Control

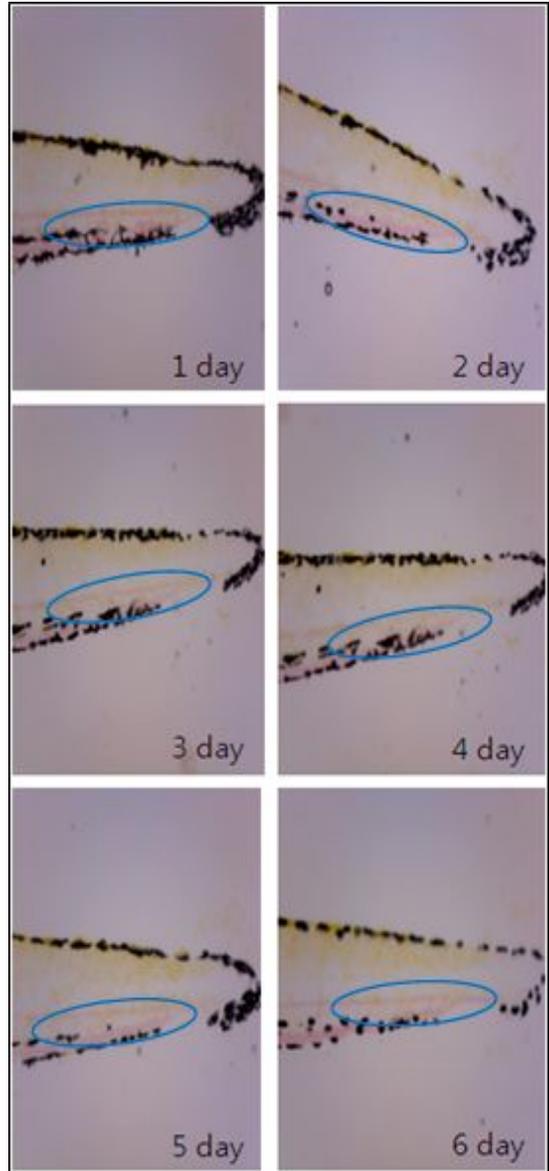
비교 실험 구인 control은 시간 경과에 따른 꼬리지느러미 혈관 변화를 관찰할 수 없었으며, 10마리 모두 생존하였다.



[Fig. 7] The variation of blood circulation system of Zebrafish with no treatment according to treatment duration.

나. DMSO

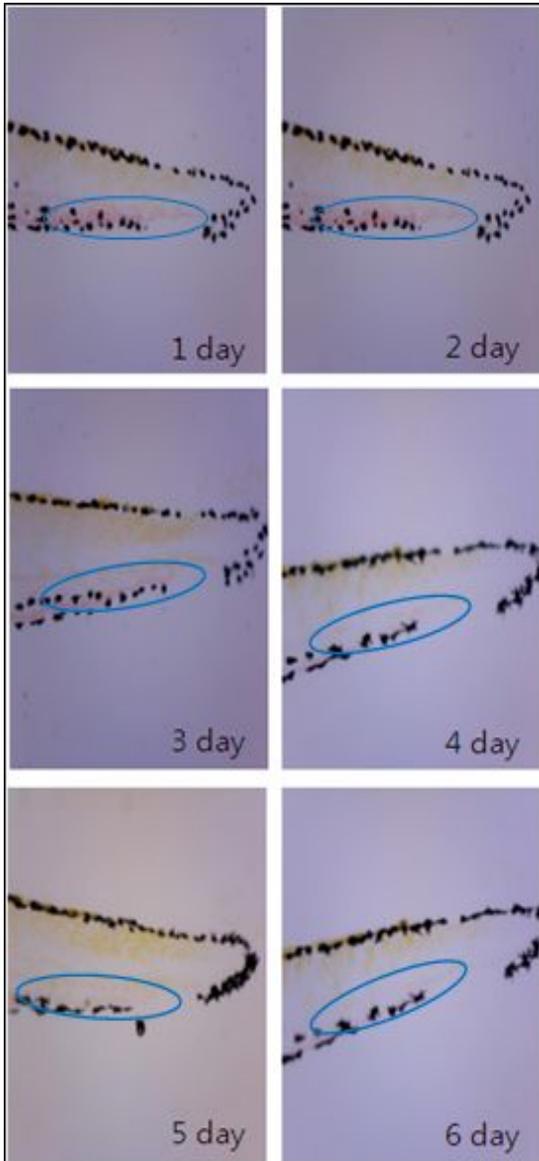
DMSO를 희석하여 사육한 부화 자어 실험 구에서도 꼬리지느러미 혈관 변화는 없었으나, 실험 과정 3일째 10마리 중 1마리가 폐사하고 9마리가 생존하였다.



[Fig. 8] The variation of blood circulation system of Zebrafish with 0.01% DMSO according to treatment duration.

다. 전호 0.1ppm

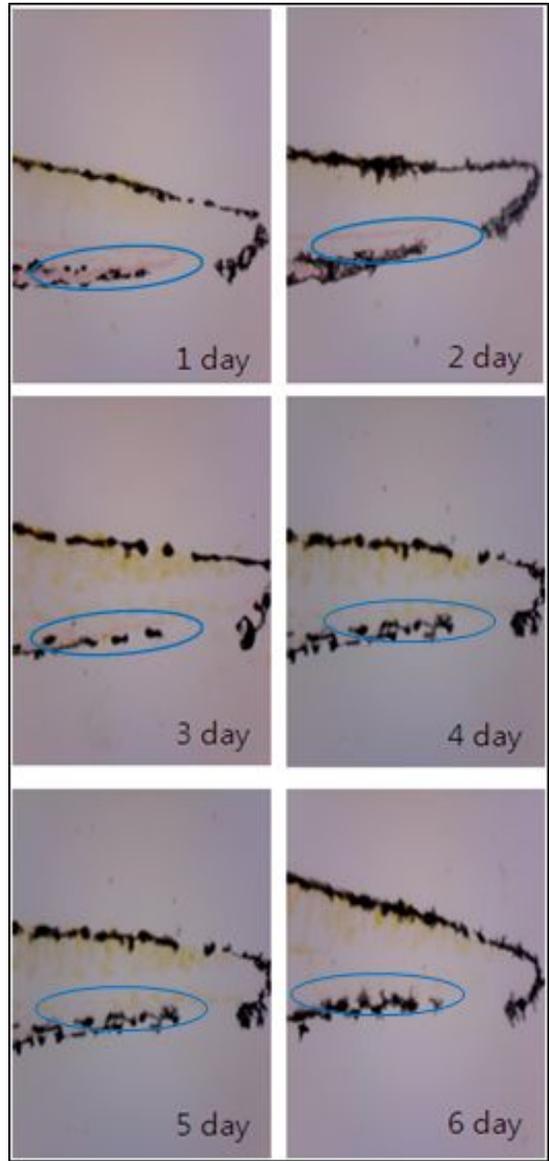
전호 추출물 0.1ppm 희석하여 사육한 부화 자어 실험 구에서는 폐사 개체가 없었으며, 4일째부터 혈관 형성이 서서히 억제되는 것이 관찰되었다.



[Fig. 9] The variation of blood circulation system of Zebrafish treated with 0.1 ppm of *Anthrisci radix* extracts with exposed duration.

라. 전호 0.2ppm

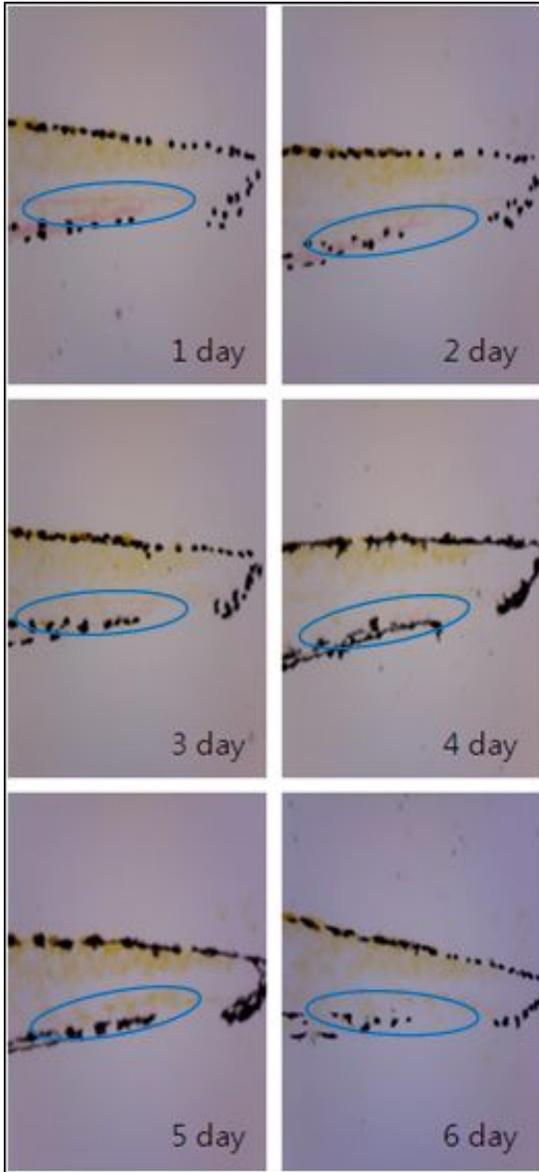
전호 추출물 0.2ppm 희석한 실험 구에서도 폐사 개체가 없었으며, 4일째부터 혈관 형성이 억제되기 시작하여 6일째에는 거의 억제되는 것이 관찰되었다.



[Fig. 10] The variation of blood circulation system of Zebrafish treated with 0.2 ppm of *Anthrisci radix* extracts with exposed duration.

마. 전호 0.3ppm

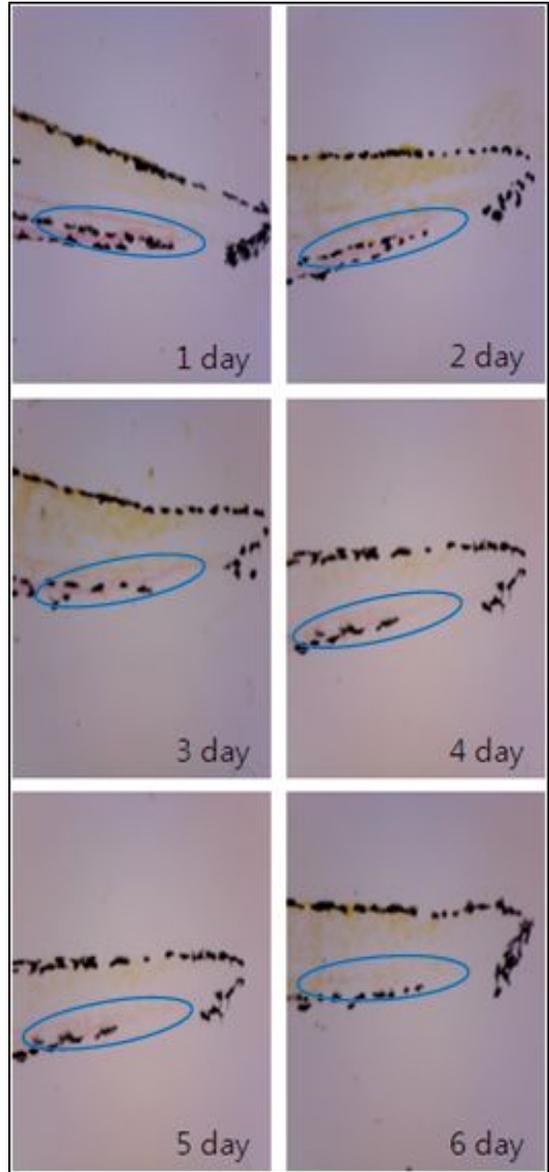
전호 추출물 0.3ppm 희석한 실험 구에서도 폐사 개체가 없었으며, 3일째부터 혈관 형성이 서서히 억제되어 5일째에는 거의 억제되었다.



[Fig. 11] The variation of blood circulation system of Zebrafish treated with 0.3 ppm of *Anthriscus radix* extracts with exposed duration.

바. 파고지 0.1ppm

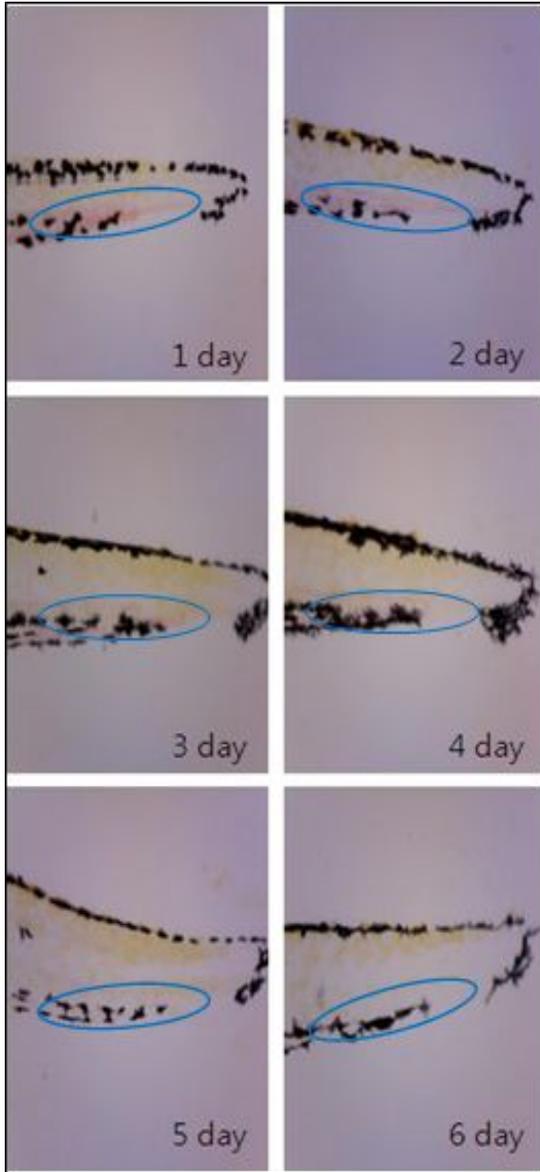
파고지 추출물 0.1ppm 희석 사육한 부화 자어 실험 구에서는 폐사 개체가 없었으며, 4일째부터 혈관 형성이 서서히 억제되는 것이 관찰되었다.



[Fig. 12] The variation of blood circulation system of Zebrafish treated with 0.1 ppm of *Psoraleae semen* extracts with exposed duration.

사. 파고지 0.2ppm

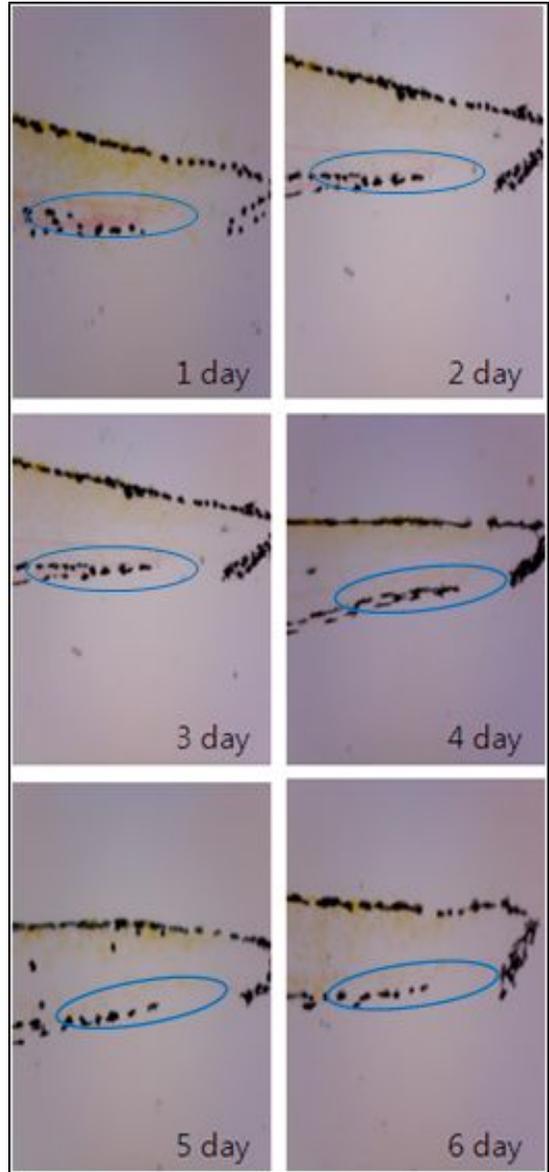
파고지 추출물 0.2ppm 희석한 실험 구에서도 폐사 개체가 없었으며, 4일째부터 혈관 형성 억제가 시작되어 5일째에는 거의 억제되었다.



[Fig. 13] The variation of blood circulation system of Zebrafish treated with 0.2 ppm of *Psoraleae semen* extracts with exposed duration.

아. 파고지 0.3ppm

파고지 추출물 0.3ppm 희석한 실험 구에서도 폐사 개체가 없었으며, 3일째부터 혈관 형성 억제가 시작되어 5일째에는 거의 억제되었다.



[Fig. 14] The variation of blood circulation system of Zebrafish treated with 0.3 ppm of *Psoraleae semen* extracts with exposed duration.

제브라피쉬 부화 자어의 신생혈관 형성 관찰을 통해 전호와 파고지 추출물의 신생혈관 형성 억제 활성도가 추출물의 처리 농도와 시간에 비례하여 증가하는 것을 확인하였다.

IV. 결론

신생혈관 형성은 종양세포의 성장과 전이를 결정짓는 중요한 요소이며, 많은 종류의 악성 종양에서 혈관신생의 정도는 종양의 진행 및 전이(metastasis)와 관계가 있다고 알려져 있다.

전호, 파고지 추출물은 식물자원 추출물을 이용한 여러 연구 논문에서도 쓰였고, 생약제 추출물 수율이 가장 좋다고 알려진 지용성 물질을 추출하는 방법인 70% Ethanol 추출법이 전호, 파고지 역시 물로 추출하는 열수 추출에 비해 수율이 높아 유효성분을 추출함에 있어 70% Ethanol 추출법이 적당하다고 사료된다.

천연산물 추출물의 신생혈관 형성 억제력을 알아보기 위해 HUVECs을 이용하여 신생혈관 형성 억제 실험을 실시하였다. 그 결과 전호 및 파고지 추출물의 농도 증가와 처리시간에 비례하여 혈관형성 정도가 억제되는 것을 확인하였다.

이러한 신생혈관 형성 억제 활성 기작을 단백질 수준에서 확인하기 위해 Anti-VE-cadherin 및 Anti-Akt를 이용하여 실시한 western blot에서 농도의존적으로 단백질 발현 양이 감소하는 것을 확인하였다.

이는 전호 및 파고지 추출물이 세포 내 신호분자들의 signaling을 차단하고, 핵 내의 전사인자인 NF- κ B의 활성을 저해하여 신생혈관 형성을 억제하는 것으로 사료된다.

제브라피쉬 부화 자어 신생혈관 관찰 결과 Control 및 DMSO를 첨가한 실험 군에서는 시간 경과에 따른 혈관 형성 억제가 확인되지 않았으나, 전호 및 파고지 추출물 첨가 실험 군에서는 농도증가와 시간 경과에 따라 현저하게 신생혈관

형성이 억제되는 것을 확인할 수 있었다.

본 연구에서 신생혈관 억제에 관여하는 전호, 파고지의 특정 성분을 분리 정제하여 실험에 이용하지 못하였으나, 앞으로 추출물의 정밀한 실험과 성분 분석, 화학구조를 규명하여 천연생리활성 물질을 탐색할 필요성이 있을 것으로 사료된다.

최근에는 다양한 신생혈관 형성 억제 물질에 대한 연구가 진행되고 있는데, 이러한 물질들은 암 관련 세포의 성장 또한 억제하는 것으로 밝혀졌다(Harmon et al., 2001).

신생혈관 형성을 억제하는 물질을 찾아내어 항암제로 개발하려는 가장 큰 이유는 암세포에 대하여 직접적으로 작용하여 암세포를 죽이기보다는 암세포 성장에 필수적인 신생혈관 형성을 원천적으로 억제함으로써 부작용이 없는 이상적인 항암제를 개발하고자 하는 데 있다.

녹차 씨앗 추출물(GSE)의 신생혈관 억제효과를 이용한 항암 기능성 규명 연구에서도 신생혈관 억제를 통한 누드마우스 in vivo 실험으로 위암, 간암, 자궁암, 유방암세포가 GSE 농도 증가에 따라 세포분열과 성장이 억제되고 괴사되어지는 결과로 보아 신생혈관 억제에 효과가 있는 전호, 파고지도 항암 가능성이 있을 것으로 사료된다(Seo, 2009).

한국산 식물자원으로부터 신생혈관 억제제 검색 연구에서 전호가 암 성장률 5±1%로 다른 식물자원에 비해 낮은 암 성장률 결과를 보였다(Bae, 2000).

파고지 에탄올 추출물과 바쿠치올을 이용한 유방암세포에서의 화학적 암 예방에 대한 연구에서도 파고지가 여성의 유방암에 있어서 특이적인 암 예방 효과가 있을 것이라는 연구 결과로 비추어 현재 임상에서 사용되고 있는 대부분의 항암제 들은 90% 이상 수입에 의존하고 있는 실정이므로 다양한 생리 활성을 가진 지역 천연 산물 전호, 파고지를 이용한 혈관신생 억제 및 암세포 사멸 유도에 활성을 나타내는 기능성 식품 및 신

약 개발로 지역 경제 활성화에 기여하고자 하였다(Chung, 2007).

References

- Bae KH, You YJ, Park JY and An RB(2000). Screening of Angiogenesis inhibitors from Korean plants. Korean Journal of Pharmacognosy v.31 no3. : 320~324
- Carmeliet P and Jain RK(2000). Angiogenesis in cancer and other diseases. Nature. 407: 249~257. <https://www.nature.com/articles/35025220>
- Chung JH(2007). Chemopreventive effects of ethanol extract of *Psoralea Corylifolia* and bakuchiol against human breast cancer cells. Unpublished master's thesis, Seoul University.
- Fishman MC(2001). Zebrafish the canonical vertebrate. Science 294 : 1290~1291. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1066652>
- Folkman J(1992). The role of angiogenesis in tumor growth. Semin Biol. 3: 65~71.
- Harmon AW and Harp JB(2001). Differential effects of flavonoids on 3T3-L1 adipogenesis and lipolysis. Am. J. Physiol. Cell Physiol. 280, C807-13. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpcell.2001.280.4.C807>
- Kozawa M, Morita N, Hata K and Onan KD(1978). Structures of *Anthriscus*, a new phenylpropanoid ester from the roots of *Anthriscus sylvestris hoffm.* Chem. Pharm. Bull. 26: 1337~1338.
- Lawson ND and Weinstein BM(2002). In vivo imaging of embryonic vascular development using transgenic Zebrafish, Dev Biol, 248 : 307~318. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12167406>
- Pae HO, Cho H, Oh GS, Kim NY, Song EK, Kim YC, Yun YG, Kang CL, Kim JD, Kim JM and Chung HT(2001). Backuhiol from *Psoralea corylifolia* inhibits the expression of inducible nitric oxide synthase gene via the inactivation of nuclear transcription factor- κ B in RAW 264.7 macrophages. Int. Immunopharmacol 1: 1849~1855.
- Roman, BL and Weinstein, BM(2000). Building the vertebrate vasculature: research is going swimmingly, Bioessays, 22:882~893. [http://dx.doi.org/10.1002/1521-1878\(200010\)22:10<882::AID-BIES3>3.0.CO;2-J](http://dx.doi.org/10.1002/1521-1878(200010)22:10<882::AID-BIES3>3.0.CO;2-J)
- Seo MJ(2009). Studies on Anti-Cancer Functionality with Greentea Seed Extract Based on Anti-Angiogenic Effect. Unpublished master's thesis, Yeosu University.
- Streisinger G, Walker C and Dower N(1986). Production of clones of homozygous diploid Zebrafish (*Brachydanio rerio*). Nature 291: 293~296. <https://www.nature.com/articles/291293a0>
- Takahashi Y, Kitadai Y and Bucana CD(1995). Expression of Vascular Endothelial Growth Factor and its Receptor, KDR, Correlates with Vascularity, Metastasis, and Proliferation of Human Colon Cancer. Cancer Res. 55(18) : 3964~3968. <https://cancerres.aacrjournals.org/content/55/18/3964.full-text.pdf>

-
- Received : 14 April, 2020
 - Revised : 19 June, 2020
 - Accepted : 26 June, 2020