

권백이 U937의 세포독성에 미치는 영향

박성희 · 이인자[†]

효성여자대학교 약학과

Effect of *Selaginella tamariscina* on U937 Cytotoxicity

Sung-Hee and Park In-Ja Rhee[†]

Dept. of Pharmacy, Hyosung Women's University, Kyungsan 713-702, Korea

Abstract

In order to study the antitumoral effect of *Selaginella tamariscina* extract, the cytotoxicities to human histiocytic lymphoma (U937) and lymphocyte were measured by MTT method. The water extract of *Selaginella tamariscina* showed the effective cytotoxicity and increased the cytotoxicity of doxorubicine, cyclophosphamide on U937, but it had no effect on the cytotoxicity of lymphocyte. The cytotoxicity increased with the addition of other antineoplastic agents but decreased with the combination of antineoplastic agent and *Selaginella tamariscina* in the lymphocyte. The results indicated that the side actions of retinoic acid, doxorubicine and cyclophosphamide decreased by addition of *Selaginella tamariscina* water extracts.

Key words : U937, cytotoxicity, MTT

서 론

종양은 세포학적으로는 비정상적인 세포의 과다증식으로 인하여 장기·골격 및 피부 조직에 비정상 조직을 형성하는 질환으로, 그 원인은 정확하게 밝혀지지 않았으나 작업환경·음식물·방사선·공해·화학물질 등이 발암인자로 알려져 있다.

특히 암(cancer)은 눈부신 의학의 발전에도 불구하고 여전히 난치병으로 남아있어 치료법이 다양하게 연구 발전되고 있다. 암치료에는 외과적 처치, 방사선 요법, 화학요법 및 면역요법 등이 활용되고 있으며 그 중에서도 화학요법이 자주 응용되고 있는데, 이들 항암제는 암종에 대한 감수성의 차이·치료 후의 부작용·재발 및 합병증 등이 문제점으로 대두되고 있다¹⁾. 오늘날의 화학요법에 사용되는 약물의 대부분은 정상세포에 대한 독성을 수반하며 항암제의 독성은 신체의 각 장기에 미치며 특히 골수 및 면역계에 대한 공통적인 부작용을 나타낸다. 항암치료에 의한 중증 백혈구 감소증 환자에 있어서 감염의 빈도 및 사망율을 증가시

키기 때문에 골수 기능이 회복될 때 까지 격리시켜 치료하거나 발열시 적극적으로 항생제를 투여하는 등 보조요법의 중요성이 강조되고 있다²⁾. 따라서 암세포에 선택적으로 작용하는 새로운 형의 항암제 및 암세포에 저항할 수 있는 생체내의 여러가지 방어기전 즉 면역기구를 강화내지 조절시킴으로써 암을 치료할 수 있는 생물학적 치료법의 개발이 요구되고 있다.

근래에 이르러 체계와 이론이 서로 다른 서양의학과 동양의학이 각기 갖고 있는 장단점을 상호보완하는 새로운 치료법이 요구되고 있다³⁾. 즉 항암효과가 있는 천연물에 관한 검색과 약효성분을 규명하여 새로운 항암제를 개발하기 위한 활발한 연구가 진행되고 있다. 최근의 보고로 Sasaki⁴⁾는 감초가 Odajima⁵⁾는 인삼이 각각 상당한 항암효과가 있다고 하였다. 또 국내에서도 Moon 등⁶⁻⁸⁾은 봉출 등 수종의 생약에서 추출한 다당류(polysaccharides)의 항암효과를 보고하였고 임 등¹⁰⁾은 어성초, 형개 및 녹혈의 항암효과를 보고하였으며 박 등¹¹⁾은 생약 66종의 항암효과를 검색 보고하였다.

특히 권백은 간암·폐암·모발상피암·악성포도배 같은 종양에 탁월한 효과를 나타내며 지혈작용이 있는 생약으로서¹²⁾, 이 등¹⁾에 의해 murine tumor cell인 P388

[†] To whom all correspondence should be addressed

과 human solid tumor cell인 MKN45에 amentoflavone이 항암효과를 나타낸다고 보고 되었으며, 박 등¹¹⁾에 의해서는 한국인의 종양에서 유래한 위암세포주 SNU-1에 대한 antineoplastic activity가 보고된 바 있다.

천연물의 항암성분에 대한 최근의 연구에 있어서 항암효과에 관한 보고는 많으나, 그 부작용과 임상 응용 가능성에 대한 보고는 없었다. 또한 한방약물과 서양 약물의 병용요법이 임상적으로 매우 유용하다는 보고도 있으므로¹²⁾ 저자 등은 항암효과가 있는 천연물중 임상 응용 가능성이 높은 권백을 대상으로 현재 사용되는 화학요법제와 병용 부여해 본 결과 항암효과와 화학요법제의 가장 심각한 부작용인 면역억제에 대한 권백의 역할을 연구하였다.

암을 효과적으로 정복하기 위해서는 암세포 살해능은 강하고 치명적인 감염을 막아줄 정상 면역세포(lymphocyte)에는 부작용이 적은 이상적인 항암제의 개발이 절실히 요구되고 있다. 이에 본 연구에서는 민간에서 항암의 목적으로 사용되었던 권백의 암세포 증식 억제능과 부작용으로 오는 정상면역 세포에 대한 독성 및 현재 사용되고 있는 항암제와 병용 투여하여 항암작용의 증가와 부작용 경감효과를 알아보려 하였다.

재료 및 방법

권백(*Selaginella tamariscina*)

실험에 사용한 재료는 시중(대구, 약령시장)에서 구입하여 사용하였다. 권백의 조제는 권백 100g에 증류수 1000ml을 가하고, 150분간 환류냉각기를 장치하여 추출한 후 여과, 감압농축, 냉동건조하여 분말화한 것을 고압멸균하여 사용하였다. Retinoic acid(Sigma), Doxorubicine(Adriamycine, Adria Laboratories inc.), Cyclophosphamide(Cytosan, Mead Johnson Co.)는 모두 0.2 μ m filter로 여과하여 사용하였다.

세포배양

Cell line

U937은 human histiocytic lymphoma cell line(ATCC 1593)을 한국 세포주 은행에서 구입하여 사용하였다.

Lymphocyte는 20~25세의 건강한 성인의 말초 정맥혈에서 분리하였다.

세포배양법

RPMI-1640 배지에 10% FBS(Fetal Bovine Serum), 100 μ g/ml penicilline, 100 μ g/ml streptomycine을 첨가

하여 배양액으로 하였으며, cell은 37°C, 5% CO₂에서 배양하였다. MTT분석은 RPMI-1640에 1% BSA(Bovine Serum Albumine)를 첨가하여 배지로 사용하였다.

임파구 분리

건강한 성인(20~25세)으로부터 혈액 20ml을 heparin 처리한(20~50unit/ml) 주사기로 말초 정맥혈을 채혈한 뒤, PBS으로 3배 희석하여 Ficoll-Hypaque(D=1.070)용액에 중첩시킨 후 1000 \times g로 10분간 원심분리하고 PBS로 3회, RPMI-1640으로 1회 세척한 뒤 1 \times 10⁶cell/ml 되게 세포수를 조정하여 실험에 이용하였다. 세포수는 trypan blue 염색과 hematocytometer를 이용하여 현미경하에서 계산하였다¹³⁻¹⁶⁾.

MTT 분석

준비된 single cell suspension을 U937 cell의 경우 4 \times 10⁴cell/ml, lymphocyte의 경우 1 \times 10⁶cell/ml이 되도록 농도를 맞추고 각 농도로 약제를 처리한 후, 96 well microtiter plate에 150 μ l/well씩 넣고 44시간 배양(37°C 5% CO₂), MTT(3-(4,5-dimethyl thiazol-2yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide)용액을 50 μ l/well씩 넣고 다시 4시간 배양하였다. Plate를 꺼내어 배지를 제거하고 DMSO(dimethyl sulfoxide) 150 μ l를 넣고, 용해된 formazan을 비색정량 하였다. 5회 반복 실험하여 그 평균치(mean \pm S. D.)를 구하였다. 암세포 살해능은 대조군과 실험군의 생존율(survival percent)로 표시하였다¹⁷⁻²¹⁾.

$$\text{Survival percent (S. P.)} = \frac{\text{Optical density of sample}}{\text{Optical density of control}} \times 100$$

통계처리

실험결과와 통계처리는 Student's T-test에 의하여 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

권백이 U937의 세포독성에 미치는 영향

권백은 한방에서 하혈, 통경, 탈항증에 사용하는 생약으로서²²⁾, 간편하며 경제적인 MTT 분석법을 이용하여 U937에 대한 권백 수침 액기스의 세포독성을 측정하였을 때, 권백의 수침액 대신 RPMI-1640/1% BSA를 투여한 대조군은 100% 생존율을 관찰할 수 있었으나, 권백 농도가 증가할수록 생존율이 유의적으로 감소하

였다. 특히 1mg/ml 첨가에서는 81.33%, 10mg/ml에서는 16.88%의 생존율을 나타내었다. 1mg/ml에서 부터 세포독성을 나타내므로, 이하의 실험에서는 권백 수침액스 1mg/ml을 첨가농도로 하였다(Table 1).

화학요법제인 retinoic acid, doxorubicine, cyclophosphamide와 권백이 U937의 세포독성에 미치는 영향

화학요법제로서 악성임파종, 급성골수성 백혈병에 응용되는 doxorubicine과 malignant lymphoma, multiple myeloma, leukemia에 응용되는 nitrogen mustard 유도체인 cyclophosphamide는 DNA의 염기쌍 사이에 삽입됨으로써 DNA와 복합체를 형성, 입체적 장애를 유발하여 DNA 합성과 DNA 의존성 RNA 합성을 방해하는 알킬화제이며²³⁻²⁵⁾, 주요 부작용은 cardiotoxicity와 myelosuppression 및 심각한 면역 억제 작용을 나타낸다²⁶⁾. 또한 retinoic acid는 본 실험에 사용된 암세포인 U937에서 terminal monocytic differentiation을 유발한다고 보고²⁷⁾되었으므로 U937과 lymphocyte에 대한 효과를 비교 실험하였다.

Table 1. Effect of *Selaginella tamariscina* on U937 by MTT

Conc. (mg/ml)	<i>Selaginella tamariscina</i>	
	O.D. (540nm)	Survival percent (%)
Control	1.268±0.067	100.00
0.01	1.264±0.038	99.68
0.10	1.190±0.054	93.85
1.00	1.041±0.066*	81.33
10.00	0.214±0.051**	16.88

Values are mean±S.D.

*p<0.05 **p<0.01 : significant to the control

Table 2. Effect of retinoic acid and *Selaginella tamariscina* on U937 by MTT

Conc. of R.A. (mg/ml)	Retinoic acid (R.A.) ^{A)}		Retinoic acid+ <i>Selaginella tamariscina</i> (1mg/ml) ^{B)}	
	O.D. (at 540nm)	S.P. (%)	O.D. (at 540nm)	S.P. (%)
Control	1.296±0.029	100.00	1.087±0.020**	83.87
0.001	1.170±0.069	90.26	1.121±0.021**	86.47
0.010	0.832±0.019**	64.20	0.877±0.021**	67.65
0.100	0.502±0.009**	38.70	0.502±0.025**	38.75
1.000	0.372±0.026**	28.67	0.364±0.014**	28.12

Values are mean±S.D.

*p<0.05 **p<0.01 : Significant to the control

*p<0.05 : A significant to B

^ Retinoic acid was added

^{B)} Retinoic acid and *Selaginella tamariscina* (1mg/ml) were added

Retinoic acid의 농도가 증가함에 따라 유의성 있는 생존율 감소를 나타내었다. 또한 retinoic acid 각 농도와 권백 1mg/ml을 병용투여 하였을 때에도 retinoic acid농도가 증가할수록 유의성 있는 생존율 감소를 나타내었다(Table 2).

한편 doxorubicine 각 농도에 권백 1mg/ml을 병용 투여하였을 때에도 doxorubicine 농도가 증가할수록 doxorubicine 단독투여에 비하여 현저한 생존율 감소를 나타내었다(Table 3).

한편 cyclophosphamide 각 농도에 권백 1mg/ml을 병용 투여하였을 때, cyclophosphamide 농도가 증가할수록 cyclophosphamide 단독투여시에 비하여, 암세포 생존율이 약 10% 정도 감소하였다(Table 4).

권백이 lymphocyte의 세포독성에 미치는 영향

Monocyte like cancer cell인 U937에 대한 정상세포로서 lymphocyte에 동일한 조건으로 실험한 결과, 권백은 lymphocyte에 대하여 1mg/ml농도에서 94.51%, 10 mg/ml에서 89.88%의 생존율을 나타내어 1mg/ml에서

Table 3. Effect of doxorubicine and *Selaginella tamariscina* on U937 by MTT

Conc. of D.R. (µg/ml)	Doxorubicine (D. R.) ^{A)}		Doxorubicine + <i>Selaginella tamariscina</i> (1mg/ml) ^{B)}	
	O.D. (at 540nm)	S.P. (%)	O.D. (at 540nm)	S.P. (%)
Control	1.296±0.052	100.00	1.149±0.041****	88.66
0.01	1.184±0.024*	91.38	1.129±0.028**	87.15
0.10	1.150±0.030**	88.72	1.141±0.027**	88.05
1.00	0.612±0.017**	47.20	0.899±0.049****	69.37
10.00	0.578±0.055**	44.61	0.457±0.013****	35.25

Values are mean±S.D.

*p<0.05

**p<0.01 : Significant to the control

*p<0.05

**p<0.01 : A significant to B

O.D. : Optical density S.P. : Survival percent

Table 4. Effect of cyclophosphamide and *Selaginella tamariscina* on U937 by MTT

Conc. of C.P. (µg/ml)	Cyclophosphamide (C.P.) ^{A)}		Cyclophosphamide+ <i>Selaginella tamariscina</i> (1mg/ml) ^{B)}	
	O.D. (at 540nm)	S.P. (%)	O.D. (at 540nm)	S.P. (%)
Control	1.268±0.066	100.00	1.087±0.006****	85.73
0.10	1.225±0.027	96.61	1.114±0.026****	87.85
1.00	1.182±0.047*	93.22	1.133±0.034**	89.35
10.00	1.160±0.060*	91.48	1.093±0.026**	86.20
100.00	1.135±0.075*	89.51	1.033±0.010***	81.47
500.00	1.073±0.041**	84.62	1.011±0.027***	79.73

*p<0.05 **p<0.01 : Significant to the control mean±S.D.

*p<0.05

**p<0.01 : A significant to B

O.D. : Optical density S.P. : Survival percent

81.33%, 10mg/ml에서 16.88%의 생존율을 나타낸 U937에 비하여 세포 살해능이 현저히 감소하였다 (Table 5).

화학요법제인 retinoic acid, doxorubicine, cyclophosphamide와 퀴넥이 lymphocyte의 세포독성에 미치는 영향

Lymphocyte에 대한 화학요법제의 세포독성과, 화학요법제와 퀴넥 병용투여시의 세포독성을 MTT 분석법을 이용하여 측정하여 본 결과, retinoic acid 농도가 증가함에 따라 생존율이 감소하였으며, retinoic acid 각 농도에 퀴넥 1mg/ml을 병용 투여하였을 때 retinoic acid 단독투여시 보다 병용투여시에 lymphocyte의 생존율이 0.001mg/ml에서 유의적으로 상승하였다 (Table 6).

Lymphocyte에 대한 doxorubicine의 세포독성은 doxorubicine 농도가 증가함에 따라, 유의성 있는 생존율 감소를 나타내었다. Doxorubicine 각 농도에 퀴넥 1mg/ml을 병용 투여하였을 때는 doxorubicine 농도가 증가할수록 doxorubicine 단독투여시 보다 lymphocyte의 생존율이 유의적으로 증가하였다 (Table 7).

Cyclophosphamide농도가 증가하여도 모두 20% 정도의 생존율 감소를 나타내었다. Cyclophosphamide

Table 5. Effect of *Selaginella tamariscina* on lymphocyte by MTT

Conc. (mg/ml)	<i>Selaginella tamariscina</i>	
	Optical density (at 540nm)	Survival percent (%)
Control	0.746±0.006	100.00
0.01	0.746±0.018	100.00
0.10	0.742±0.012	99.42
1.00	0.705±0.002	94.51
10.00	0.671±0.039 ^a	89.88

^ap<0.01 : Significant to the control mean ±S.D

Table 6. Effect of retinoic acid and *Selaginella tamariscina* on lymphocyte by MTT

Conc. of R.A. (mg/ml)	Retinoic acid (R.A.) ^a		Retinoic acid+ <i>Selaginella tamariscina</i> (1 mg/ml) ^b	
	O.D. (at 540nm)	S.P. (%)	O.D. (at 540nm)	S.P. (%)
Control	0.720±0.033	100.00	0.757±0.012	105.14
0.001	0.710±0.017	98.65	0.827±0.043 [*]	114.81
0.010	0.721±0.033	100.19	0.820±0.084	113.85
0.100	0.680±0.037	94.42	0.720±0.067	100.00
1.000	0.515±0.039 ^{ab}	71.54	0.580±0.046 ^b	80.58

^ap<0.05 ^bp<0.01 : Significant to the control mean ±S.D.

^{*}p<0.05 : A significant to B

O.D. : Optical density S.P. : Survival percent

각 농도에 퀴넥 1mg/ml을 병용 투여하였을 때는 생존율은 감소하지 않았다. 즉 cyclophosphamide 단독투여시에 비하여, cyclophosphamide와 퀴넥을 병용 투여하였을 때 lymphocyte 생존율이 약 20% 정도 상승하였다 (Table 8).

이상적인 항암제 또는 치료요법의 개발을 위한 방법으로 암세포인 U937에 생약으로는 퀴넥을, 화학요법제로는 retinoic acid, doxorubicine, cyclophosphamide를 투여하여 MTT법으로 그 세포독성을 관찰한 결과, 퀴넥과 병용하면 화학요법제의 보다 낮은 농도에서 동일한 암세포독성을 나타내므로, 화학요법제가 발현하는 부작용을 경감시킬 수도 있을 것으로 사료되며, 한편으로 monocyte like cancer cell인 U937에 대한 정상세포로서 lymphocyte에 동일한 조건으로 실험한 결과, 퀴넥은 lymphocyte에 대하여 U937에 비하여 세포살해능이 현저히 감소하였다. 화학요법제는 모두 lymphocyte에 직접적인 세포독성을 나타내었다. 또한 퀴넥과 화학요법제를 병용 투여하였을 때 암세포에 대한 살해능은 증가

Table 7. Effect of doxorubicine and *Selaginella tamariscina* on lymphocyte by MTT

Conc. of D.R. (µg/ml)	Doxorubicine (D. R.) ^a		Doxorubicine+ <i>Selaginella tamariscina</i> (1mg/ml) ^b	
	O.D. (at 540nm)	S.P. (%)	O.D. (at 540nm)	S.P. (%)
Control	0.726±0.040	100.00	0.729±0.027	100.41
0.01	0.745±0.025	102.58	0.714±0.012	98.36
0.10	0.660±0.008	90.85	0.660±0.009	90.85
1.00	0.537±0.004 [*]	73.94	0.660±0.009 ^{**}	90.85
10.00	0.583±0.008 [*]	80.28	0.706±0.000 ^{**}	97.18

^ap<0.05 : Significant to the control mean ±S.D.

^bp<0.05 ^{**}p<0.01 : A significant to B

O.D. : Optical density S.P. : Survival percent

Table 8. Effect of cyclophosphamide and *Selaginella tamariscina* on lymphocyte by MTT

Conc. of C.P. (µg/ml)	Cyclophosphamide (C.P.) ^a		Cyclophosphamide+ <i>Selaginella tamariscina</i> (1mg/ml) ^b	
	O.D. (at 540nm)	S.P. (%)	O.D. (at 540nm)	S.P. (%)
control	0.749±0.044	100.00	0.748±0.035	99.87
0.1	0.638±0.010 [*]	85.55	0.809±0.006 ^{***}	108.38
1.0	0.649±0.014 [*]	86.99	0.809±0.038 [*]	108.38
10.0	0.599±0.013 ^{**}	80.05	0.793±0.023 ^{**}	106.36
100.0	0.623±0.012 ^{**}	83.53	0.785±0.055	105.20
500.0	0.606±0.012 ^{**}	82.65	0.802±0.016 ^{**}	107.51

^ap<0.05 ^{**}p<0.01 : Significant to the control mean ±S.D.

^bp<0.05 ^{**}p<0.01 : A significant to B

O.D. : Optical density S.P. : Survival percent

하였고, 정상세포인 lymphocyte에 대한 화학요법제의 독성은 감소되었다. 이것으로 부터 권백은 alkylating agent와는 다른 mechanism에 의하여 암세포독성을 나타내는 것으로 사료되며 이들 machanism에 대해서는 추후 더 자세하게 검토하여야 할 과제다.

요 약

천연물에서 직접적인 암세포 살해능을 가지며, 동시에 중증의 백혈구 감소증을 억제시킬수 있는 물질을 탐색하기 위하여 암세포주인 U937 human lymphoma cell과 정상면역 세포인 lymphocyte에 대한 권백 수침 엑기스의 암세포 살해능과, 현재 임상에서 응용되고 있는 화학요법제인 retinoic acid, doxorubicine, cyclophosphamide와의 병용요법이 암세포(U937)와 정상세포(lymphocyte)에 미치는 영향을 MTT 분석법을 이용하여 비교 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 권백 수침 엑기스 단독첨가시 권백 수침 엑기스는 암세포인 U937 human lymphoma cell의 성장을 유의적으로 억제시켰으며, 정상면역세포인 lymphocyte에는 영향을 미치지 않았다. 권백 수침 엑기스와 화학요법제를 병용 첨가시 화학요법제를 단독 처리했을 때 보다 권백 수침 엑기스(1mg/ml)와 화학요법제를 병용하였을 때, U937의 세포살해능의 현저히 증가되었고, 한편 lymphocyte의 세포살해능은 감소하였다. 이상의 결과에서 화학요법제와 권백을 병용 투여함으로써 암세포 살해능은 증가되고, 정상세포 살해능은 감소되었으므로 화학요법제의 가장 큰 부작용인 immunosuppression 중 leucopenia²⁹⁻³⁰⁾를 감소시킬 수 있을 것으로 사료된다.

문 헌

1. 이인란, 송지영, 이운실 : 천연물로부터 항암물질의 분리. *생약학회지*, **23**, 132 (1992)
2. 한지연, 안유배, 강진형, 문한림, 홍영선, 김훈교, 이경식, 김동집, 신혜숙, 차해선 : 항암치료 후 발생한 중증 백혈구 감소증. *대한암학회지*, **25**, 601 (1993)
3. Hosoya, E. and Yamamura, Y. : Recent advances in the pharmacology of KAMPO MEDICINES. *Excerpta Medica, Japan*, p.275 (1988)
4. Sasaki, S. : Antitumor agents from medical plants. *Kokai Tokyo Koho Jp.*, p.58 (1983)
5. Odajima, Y. : Effect of ginseng on cancer cell. *Yakuyo Ninjin Sono Kenkyuto Shinpo.*, p.198 (1981)
6. Moon, C. K., Lee, B. G., Lee, S. H. and Kang, T. L. : Effect of antitumor polysaccharides form Albizza julibrissin on Immune function. *Arch. Pharmacol Res.*, **8**, 277 (1985)

7. Moon, C. K., Park, K. S., Lee, S. H., Ha, B. J. and Lee, B. G. : Effect of antitumor polysaccharides from Forsythia Coreas on the Immune Function (I). *Arch. Pharmacol Res.*, **8**, 31 (1985)
8. Moon, C. K., Park, K. S., Lee, S. H. and Yoon, Y. P. : Effect of antitumor activities of several phytopolysaccharides. *Arch. Pharmacol Res.*, **8**, 42 (1985)
9. Moon, C. K., Sim, K. S., Lee, S. H., Park, K. S., Yun, Y. P., Ha, B. J. and Lee, C. C. : Antitumor activity of some photobased polysaccharides and their effects on the immune function. *Arch. Pharmacol Res.*, **6**, 123 (1983)
10. 임제훈, 우홍정, 김병운 : 수종의 환약물이 암세포 감수성에 미치는 영향. *경희한의대논문집*, **9**, 241 (1986)
11. 박재갑, 현진원, 임경화, 신진이, 원용진, 이영득, 신국현, 장일무, 우원식 : 전통 약용식물의 항암효과에 대한 연구. *생약학회지*, **24**, 223 (1993)
12. 상민의 편저, 김철수 역주 : 항암본초. *바람과 물결*, p.252 (1992)
13. 홍남두, 김종우, 김남재, 김진식 : 생약복합제와 항암제의 병용투여에 관한 연구(제2보). *생약학회지*, **23**, 89 (1992)
14. Maluish, A. E. and Strong, D. M. : Lymphocyte proliferation. in "Manual of clinical laboratory immunology" Rose, F. H. and Fahey, J. L. (eds.), American Society for Microbiology, Washington, D.C. p.274 (1986)
15. 김정목, 정태준, 정용훈, 조양자 : 마우스 비장 세포 임파구 및 사람 말초 혈액 임파구의 interleurin-2 (IL-2) 생성 기관에 대한 연구. *대한면역학회지*, **11**, 79 (1989)
16. 임대철, 김정목, 정태준, 정용훈, 조양자 : 마이토젠 및 림포카인이 마우스 비장세포 임파구 및 사람 말초 혈액 임파구 증식 반응에 미치는 영향. *대한면역학회지*, **11**, 89 (1989)
17. Carmichael, J., DeGraff, W. G., Gader, A. F., Minna, J. D. and Mitchell, J. B. : Evaluation of a tetrazolium-based semiautomatic colorimetric assay : Assessment of radiosensitivity. *Cancer Res.*, **47**, 943 (1987)
18. Carmichael, J., Degraff, W. G., Gazder, A. F., Minna, J. D. and Mitchell, J. B. : Evaluation of a tetrazolium-based semiautomatic colorimetric assay : Assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res.*, **47**, 935 (1987)
19. Park, J. G., Kramer, B. S., Steinberg, S. M., Carmichael, J., Collins, J. M., Minna, J. D. and Gaxder, A. F. : Chemosensitivity testing of human colonrectal carcinoma cell lines using a tetrazolium-based colorimetric assay. *Cancer Res.*, **47**, 5875 (1987)
20. Mosman, T. : Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival : application to proliferation and cytotoxic assay. *J. Immunol Methodes*, **65**, 55 (1983)
21. 유양식, 김정목, 정태준, 함경수, 조양자 : Interleukin-2 활성의 측정에 있어 ³H thymidine 흡수법과 Tetrazolium based (MTT) colorimetric assay의 비교. *대한면역학회지*, **11**, 39 (1989)
22. 김영재, 김일혁, 류병수 : 약품자원식물학. *동명사*, p. 79 (1970)
23. Gerald, K. M. and Kathlyitvak, M. S. : AHFS drug information. American society of hospital pharmacists, p. 527 (1993)
24. Koh, C. S. and Chin, K. : Medical index. 5th ed., Mei-

- cal Index Publishing Co., p.2048 (1988)
25. Gerald, K. M., Kathylytvak, M. S. : AHFS drug information. American society of hospital pharmacists, p. 513 (1993)
 26. Koh, C. S. and Chin, K. : Medical index. 5th ed., Meical Index Publishing Co., p.1521 (1988)
 27. Michael, B. S., Anita, B. R. : Role of retinoids in differentiation and carcinogenesis. *Cancer Research*, **43**, 30-34 (1983)
 28. Dinubile, M. J. : Stopping antibiotic therapy in neutro-
openic patients. *AnnIntern Med.*, **108**, 289 (1988)
 29. Kaufman, D., Rosen, N. and Young, R. C. : Hematologic complications of chemotherapy. In "The critically ill immunosuppressed patients" Parrillo, J. E. and Mar-su, H.(eds.), Asppen Publishers, Ins., p.266 (1987)
 30. Mullen, C. A. and Buchanan, G. R. : Early hospital discharge of children with cancer treated for fever and neutropenia : Identification and management of the low-risk patients. *J. Clin. Oncol.*, **8**, 1988 (1990)

(1994년 6월 23일 접수)