

청둥오리 압란유의 항암 효과

류병호* · 김민정 · 양승택

경성대학교 응용공학부 식품생명공학과

Antitumor Effects of Duck's Egg Oil on the Cancer Cells

Beung-Ho Ryu*, Min-Jeong Kim and Seung-Taek Yang

Department of food science and biotechnology Kyungsoong University, Busan 706-680

Abstract

This study were constructed to investigate effects of duck's egg oil on antitumor agent or a new natural immunomodulator. To obtained the aboved objectives, Duck's egg oil was purified the large scale from Duck. Duck's egg oil was accelerated the increasing reaction of mouse spleen cells, while inhibited to increase the YAC-cells. However, there is no significance the rate of CD4' / CD8' cell. The normal rate of CD4'-T and CD8'-T cells were accelerated the higher rate than that normal mouse group, and Duck's egg oil feeding mice showed a significant enhancement of expression of IL-2 receptors, an increase of numbers of CD4+ T cells, CD8+ T cells. Otherwise, Duck's egg oil stimulated the production of NO from peritoneal macrophages and the production of TNF-a and also significantly accelerated in the spleen mice. On the other hands, lung localization of B16F10 melanoma cells inhibited by Duck's egg oil. These results found that Duck's egg oil is useful new functional materials as antitumor agent or immunomodulator.

Key words – Duck's egg oil, antitumor effect, immunomodulator

서 론

암은 세계적으로 사망원인이 높은 것으로 알려져 있으나 암은 그 발병 메카니즘이나 치료 방법이 잘 알려져 있지 않다. 지금까지 효과적으로 암을 치료할 수 있는 약품을 개발하고 있으나, 임상적으로 사용할 때 정상세포의 사멸 내성발현등 치명적인 부작용을 나타내고 있어 큰 문제점으로 대두되고 있다. 이러한 점을 보완하기 위하여 정상

세포에 독성이 없고 면역체계를 활성화시킴으로서 암을 정복하려는 연구가 활발히 이루어지고 있다. 이에 따라 최근에는 각종 천연자원으로부터 새로운 항암성분을 탐색하고 개발하려는 연구보고가 많다. 그중에서도 청둥압란유도 생리활성이 높은 것으로 알려져 있다.

청둥오리는 우리주변에서 방목하는 가축 중 다른 동물과는 다르게 1년에 360개의 알을 생산할 정도로 번식력이 대단하며 가정하수나 공장폐수, 오염된 하천에서도 무엇이든 먹고 잘 자라며, 해충을 잡아 먹어 무공해 작물을 재배하는데 큰 공을 세우는 특이한 동물로 알려져 있다. 오리는 민간약으로 중풍, 고혈압, 동맥경화 등 성인병의 특효약

*To whom all correspondence should be addressed
Tel : (051) 620-4712, Fax : (051) 622-4986
E-mail : bhryu@star.kyungsoong.ac.kr

으로 동의보감, 중약 대사전에 기록되어 있다[15,16]. 특히 오리알은 영양분이 골고루 들어 있고 그 자체만으로도 새로운 생명을 탄생시키는 완전식품이다. 이와 같이 오리알에서 추출하여 정제한 난유에는 우리의 건강을 증진시키는 각종기능성 성분이 듬뿍 들어 있으며 특히 특수성분으로는 유헴합유 아미노산인 메티오닌(methionine)과 성인병 치료에 효과가 뛰어난 새로운 아미노산으로 각광을 받고 있는 타우린(taurine)이 들어 있다[14]. 지방산으로는 필수지방산인 리놀레산 및 아라키돈산이 이상적인 비율로 함유되어 있고 특히 성인병 예방은 물론 노인성 치매나 어린이의 두뇌발달에 큰 역할을 한다. 그리고 레시틴은 사람의 뇌 속에 많이 함유되어 있는 특수성분의 하나로 노인성 치매나 어린이에게는 기억력을 증강시킨다[13].

한편, 우리나라는 식생활의 서구화로 성인병이 늘어나고 있으며 이에 대한 예방과 치료는 화학합성품인 의약품에 주로 의존하고 있으며 옛날부터 전해내려오는 민간약으로도 치료효과를 보고 있으나 후자의 경우 그 과학적 근거가 모호하다. 그러므로 민간약에 대한 과학적인 실험결과를 도출하여 약효를 재평가하는 것이 건강식품의 과학화를 위해 절실한 실정이다. 그러므로 성인병의 예방과 치료에 탁월한 효과가 있다고 알려진 청둥오리의 알에서 추출 정제한 난유 성분의 기능적 특성을 밝혀 미이용 신기능성 소재로 활용함으로써 성인병을 예방하고 치료도 인해 고통받는 사람이 건강한 삶을 영위하는데 도움을 줄수 있을 것으로 기대된다. 따라서 본 연구는 청둥오리알을 일정한 온도에서 추출 정제한 난유를 각종 암세포를 이용하여 항암결과를 실험하였다.

재료 및 방법

실험 동물

5-6 주령의 수컷, C57 BL/6계 마우스를 대한실험동물센터(충북 음성)에서 구입하여 사용하였다. 온도는 $20 \pm 2^\circ\text{C}$, 명암주기가 12시간 단위로 유지하며 고형사료와 물을 충분히 공급하였다. 실험전 마우스를 동일한 조건하에서 사육하여 동물실 환경에서 적응시켰다. 사료는 삼양유지 사료사와 항생제 무첨가 마우스용 펠릿을 공급하였다.

압란유

청둥오리 압란유(고온에서 추출)는 보성식품(주)(경북 청

도면 매전면 구촌리)에서 제공받아 사용하였다.

압란유의 마우스에 대한 공급

압란유 10 mL에 수돗물 100 mL로 희석하여 급수병에 담아 자유롭게 먹을 수 있도록 하였다(케이디당 5마리). 압란유의 공급은 21일 동안 하였으며 총량은 3 g/5마리/21일이 되도록 하였다.

공시세포

비장으로부터 림프구의 분리는 다음과 같이 시행하였다. 마우스로부터 얻은 비장은 Hanks' balanced salt solution (HBSS, Sigma, St. Louis, Mo)에서 두 장의 멸균된 slide glass로 부드럽게 압착하여 림프구를 비장으로부터 유리시켰다. 이 속에 포함된 적혈구는 멸균된 림프구증류수를 사용하여 hypotonic shock로 제거하며 분리된 림프구는 완전배지에 부유시켰다. 복강대식세포는 Yoon[9]등의 방법에 따라 분리하였다. 마우스의 복강내에 Brewer's thioglycollate broth(Difco laboratory, detroit, MI) 3 mL를 주사한 3일 후, 1% fetal calf serum(FCS), 10 mM HEPES, 그리고 페니실린($100 \mu\text{g}/\text{mL}$) 및 스트렙토마이신($100 \mu\text{g}/\text{mL}$)이 첨가된 10 mL HBSS(calcium 및 magnesium 무첨가)를 이용하여 복강 삼출세포를 수집하였다. 이를 RPMI 1640 완전배지에 재부유시켜 37°C 에서 3시간 배양한 후 부착되지 않은 세포들을 인산완충액으로 세척하여 제거하고 부착세포들은 2.5 mM pyrophosphate와 rubber policeman을 이용하여 수집하여 복강대식세포로 사용하였다. 암세포주로는 mouse mammary carcinoma 세포와 mouse leukemia 세포, human histocytic lymphoma를 사용하였다.

정상 면역 세포의 증식에 미치는 압란유의 영향 측정

상기에서와 같이 준비한 세포를 flat bottomed 96 well plate 의 각 well에 분주한 다음 여기에 여러 농도의 압란유를 가하여 총량이 0.2 mL씩 되도록 조정하고 37°C 5% CO_2 배양기에 넣고 72시간 배양하였다. 이 때 배양세포의 ^3H -thymidine(^3H -TdR, specific activity: 2.0 Ci/mmol, ICN Biomedicals, High Wycombe, Bucks, England) pulse는 0.5uCi의 ^3H -TdR을 각 well에 배양종료 18시간 전에 가하여 실시하고, ^3H -TdR incorporation의 측정은 cell harvestor로 glass fiber에 세포를 수확한 후 β -counter를 이용하였다.

암세포 및 정상면역세포에 대한 세포독성 측정

MTT를 이용한 방법을 변형하여 실시하였다[8]. MTT를 PBS용액에 5 mg/mL의 농도가 되도록 녹인 다음, 무균 여과하여 4°C의 어두운 곳에 보관하였고, 보관된 지 3주 이내의 것을 검사에 사용하였다. 배양중인 microplate 의 각 well에서 상층의 배지를 조심스럽게 160 µL씩 첨가하였다. 이때 세포를 함유하지 않은 well에도 MTT 희석액을 가해주었다. 37°C, 5% CO₂에서 4시간 배양한 후 상층의 배지를 제거하여 세포 손실을 막기 위해 약 40 µL 정도는 남겼다. 각 well에 100 µL의 DMSO를 가한 후 실온에서 plate shaker로 약 20-30분간 흔들어 준 다음 ELISA reader (Micro plate EL311)를 사용하여 570 nm 및 650 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 세포를 함유하지 않은 well을 blank로 하고 650 nm는 비교치로서, 570 nm에서 측정된 값을 650 nm에서의 측정치를 감하고 이 값을 결과치로 사용하여 hexane, acetone, ethyl ether, methanol 및 water로써 추출한 용액들이 항암제의 세포독성에 어떠한 변화를 줄 수 있는가를 조사하였다.

T림프구 아형

T림프구 아형의 구성비는 phycoerythrin(PE)-conjugated rat anti-mouse CD4(L3T4)mAb와 FITC conjugated rat anti-mouse CD8(Ly-2)mAb를 이용하고 IL-2 수용체는 FITC-cojugated rat anti-mouse CD25 mAb를 이용하여 제조화사의 설명에 따라 분석하였다.

대식세포에 의한 Nitric Oxide (NO)생산 측정

복강대식세포를 세포배양판에 5×10⁵/mL의 세포가 되도록 재부유하여 IFN-γ (10 U/mL)와 LPS (1 µg/mL)의 자극하에 48시간 배양하고 그 배양 상층액 내의 NO를 Griess[2] 반응에 의해 측정하였다. 즉 100 µL의 배양 상층액에 1% sulfanilamide(30% acetic acid)와 0.1% N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride(60% acetic acid) 혼합액 100 µL를 가하여 실온에서 방치하였다. 20분 후 ELISA 판독기(Bio Tek Instruments Inc, model EL311SL)를 사용하여 800 µg/mL의 유지 농도에서 570 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

Tumor necrosis factor의 역가 측정

Tumor necrosis factor(TNF)의 측정은 ELISA kit (Genzyme, Boston, MA)를 사용하여 시행하였다. 즉 24시

간동안 항 TNF 항체를 96 well plate에 부착시킨 뒤 세척하고 여기에 검체 100 µL를 넣고 1시간 동안 96 well plate에서 반응시켰다. Tween 20이 10%가 되게 첨가된 인산완충액(PBS)으로 세척 후 90분 동안 항 TNF 단세포군 항체와 반응시켰다. 이를 세척한 후 60분 동안 peroxidase가 결합된 항 IgG 항체를 반응시키고 다시 세척한 다음 orthophenylene diamine용액을 15분간 반응시켰다. 0.5N HCl 용액을 첨가하여 반응을 정지시킨 후 450 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 표준 TNF용액을 3200, 1600, 800, 400, 200, 100 및 50pg/mL의 농도로 조절하여 함께 측정하고 표준용액에서 측정된 흡광도를 근거로 polynomial standard regression curve를 작성하고 작성된 곡선방정식을 기준으로 검체내에 포함된 TNF의 양을 구하였다.

대식세포의 탐식능 측정

복강대식세포의 탐식능은 fluorescent microbead를 이용하여 flow cytometer로 측정하였다[9].

흑색종 세포(B16F10)의 폐전이 실험

본 실험에 공시한 암세포주는 B16F10 마우스 흑색종 세포(Tumor Repository of the National Cancer Institute, Bethesda, MD)로서 10% 우태아혈청, sodium pyruvate, nonessential amino acids 및 L-glutamine이 함유된 RPMI-1640 배지에 유지하였다. 암세포의 준비는 대수증식기의 암세포를 0.05% trypsin-0.02% EDTA 용액으로 수집하여 2회 수세하여 PBS를 농도를 조정하였다. B16F10 세포(2×10⁵)를 마우스 미정맥을 통하여 주사한 후 14일째에 폐를 제거하여 흑색종의 수를 관찰하여 산정하였다[11].

결 과

압란유가 세포 증식에 미치는 영향

비장 세포 및 암세포를 배양하면서 배양초기에 압란유를 첨가한 후 각 세포의 증식양상을 산정한 결과 Table 1과 같았다. 압란유의 농도 증가에 따라 증식능이 비장세포의 경우 현저하게 증가하였으나 암세포주에서는 그 증식능이 다소 억제됨을 알 수 있었다. 또한, 압란유를 비장세포 배양초기에 첨가하고 48시간에 세포 생존율을 검사한 결과 Table 2와 같이 직접적인 세포독성활성(direct cytotoxic

Table 1. Effects of Ducks egg oil on the Proliferation of Spleen Cells and Cancer Cells

Ducks egg oil ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Spleen cells	CPM [*]		
		FM3A/S ^b	P388/S ^c	U937/S ^d
0	3001	6748	6654	6802
250	100021	5121	4321	4989
500	101119	3768	3965	2234
1000	39002	1002	1023	990

Mouse spleen cells($2 \times 10^6/\text{mL}$) and FM3A/S^b, P388/S^c, U937/S^d ($1 \times 10^4/\text{mL}$) were cultured with various concentrations of ducks egg oil extracts for 48hr in a 5% CO₂ environments, and pulsed with ³H-TdR(0.5 uCi/well) for the last 16 hrs. *;count per minute.

Table 2. Effect of Ducks egg oil on Splenocytes Viability

Ducks egg oil($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Viability(%)		
	FM3A/S ^b	P388/S ^c	U937/S ^d
0	45.9	45.2	46.5
50	51.6	50.2	53.6
250	49.4	49.8	51.8
500	50.6	45.3	49.7
1000	44.7	41.9	46.1

Splenocytes($2 \times 10^6/\text{mL}$) were cultured with various concentrations of Ducks egg oil for 48h in a 5% CO₂ incubator. Viable cells were counted in a hemacytometer by trypan blue dye exclusion. Viability of Splenocytes at culture initiation is 96%.

activity)을 관찰할 수 없었다.

압란유 투여가 T세포아군의 변화에 미치는 영향
정상대조군에 비하여 압란유 급식군의 경우에 CD4⁺ T 세포 및 CD8⁺ T세포의 비율이 증가하였다. 그러나 CD4⁺/CD8⁺ 비는 양군간의 차이를 관찰할 수 없었다(Table 3).

압란유가 복강대식세포의 NO 및 TNF- α 생산에 미치는 영향

복강대식세포로 부터의 NO 및 TNF- α 의 생산능에 미치는 압란유의 영향을 측정한 결과 Table 4와 같았다. 압란유는 NO 생산을 약간 자극함을 알 수 있었으며 TNF- α 생산도 어느 정도 항진시킬 수 있음을 관찰할 수 있었다 (Fig. 1). 또한, NO생산에 대한 압란유의 약량반응곡선을 알아본 바 지적 자극농도는 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이었다(Table 5).

Table 3. Effect of Ducks egg oil feeding on T cell Subsets of Spleen in Mice

	Percent of single positive cells		
	CD4 ⁺ CD8 ⁻ (L3T4 ⁺)	CD4 ⁺ CD8 ⁺ (Lyt2 ⁺)	Ratio of CD4 ⁺ /CD8 ⁺
Normal control	20.3	5.1	4.0
Ducks egg oil-fed	29.5	7.0	4.2

Spleen cells were stained with FITC-anti Lyt2 mAb and phycoerythrin-anti L3T4 mAb. Dual parameter direct immunofluorescence of CD4 and CD8 cells were analyzed by flow cytometry. Ducks egg oil feeding protocols are described in the Materials and Methods. Data are from a representative experiment of three.

Table 4. Nitrite Production from Normal Mice Peritoneal macrophages

Stimuli ^{a)}	NO ₂ ⁻ concentration (uM)
Media only	12 \pm 3.4
Ducks egg oil solution	28 \pm 4.2
LPS+v-IFN	37 \pm 3.2
LPS+v-IFN+Ducks egg oil solution	36 \pm 3.1

Macrophage were incubated for 48 hrs with the reagents indicated. NO₂⁻ concentration was determined spectrophotometrically at 570 nm after reaction with an equal volume of the culture suspensions(100uL) and Griess reagent at room temperature for 10 minutes. Each value in the table represents the mean \pm SD of three cultures.

^{a)}The concentration used were: v-IFN, 10U/mL; LPS, 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$; ducks egg oil solution 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Table 5. Nitrite-Production from Peritoneal Macrophages Stimulated with Various Concentration of Ducks egg oil

Ducks egg oil($\mu\text{g}/\text{mL}$)	NO ₂ ⁻ concentration(uM)
0	4.9 \pm 1.3
25	8.2 \pm 2.1
50	12.2 \pm 2.2
250	15.9 \pm 2.1
500	21.8 \pm 2.2
1000	16.7 \pm 2.3

Macrophages were incubated for 37 $^{\circ}\text{C}$ for 48hrs with the ducks egg oil concentrations indicated. NO₂⁻ concentration was determined spectrophotometrically at 540 nm after reaction with an equal volume of the culture supernants(100 μL) and Griess reagent at room temperature for 10 min. Each value in the Table represents the mean \pm SD of three cultures.

고 찰

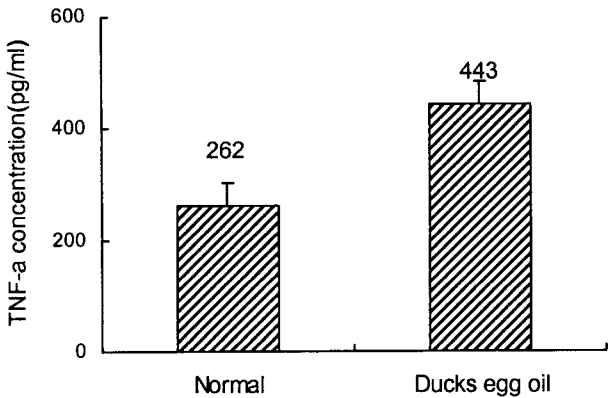


Fig. 1. Effect of Ducks egg oil solution feeding on TNF-α production in mice.

Ducks egg oil group of mice intaked ducks egg oil extracts solution in tap water (3g/200mL/5mice) for 21 days. All groups of mice were bled by heart puncture. Sera were prepared and assayed for TNF-α by ELISA reader. TNF-α concentration were 262 pg/mL (Normal control) and 443 pg/mL (Ducks egg oil solution group). *p<0.05.

압란유가 암세포의 폐전이에 미치는 영향

압란유 급식군에서 대조군에 비하여 B16F10 세포의 폐 전이는 숫적으로 감소하였으며 전이된 암세포 집락의 크기도 압란유 급식군에서 현저하게 작아 압란유가 암세포의 전이 뿐만아니라 일단 전이된 암세포의 증식도 억제함을 알 수 있었다(Fig. 2).

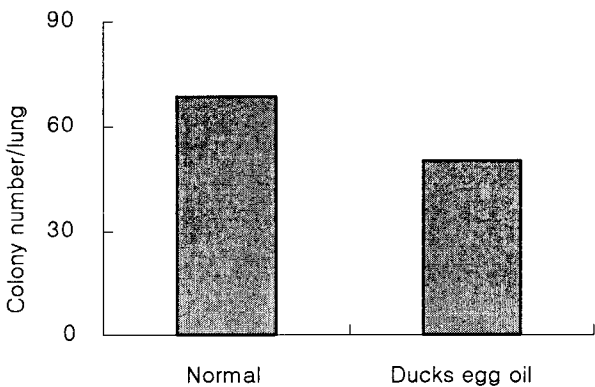


Fig. 2. Inhibition of lung colonization by Ducks egg oil group of mice fed ducks egg oil for 21 days.

All groups of mice were injected intravenously with 2×10^5 B16F10 melanoma cells on day 7. Lungs were removed on day 21, and the number of surface colonies was counted.

상기의 실험결과 압란유가 순환기계에 대한 약리효과와 암세포 등에 대한 저지작용을 가질 수 있음을 시사하였으며, 아울러 생체의 면역계가 다른 생체기관들과 상호 유기적으로 연관되어 있음[5]을 고려할 때 압란유가 면역반응 조절자(immuno response modifier)로서의 작용 가능성도 고려된다. 압란유가 림프구의 증식반응에 미치는 영향을 살펴 본 바(Table 1) 비장세포의 증식이 어느 정도 항진되었다. 이는 압란유가 T 또는 B 세포를 선택적으로 증식시키는 polyclonal activity로서의 작용할 수 있음을 시사한다고 하겠다. 따라서 압란유가 T 또는 B 세포에 대한 선택적 polyclonal activity로서의 활성화에 대하여는 T 또는 B 세포를 순수 분리하여 증식반응을 측정하든지 압란유의 생체내 및 시험관내 효과를 Thy-1, 2 및 막 IgM을 비롯한 T 또는 B 세포특이 분자에 대한 단클론 항체를 이용한 flow cytometric analysis 실시함이 보다 분명하게 구명되리라 사료된다[4,3,12].

또한 마우스 lymphoma cell의 증식반응은 억제되었는데 이러한 차이는 trypan blue dye exclusion에 의한 세포 생존검사로 확인한 결과(Table 2), 압란유가 각 세포에 대한 직접적인 세포 독성의 차이에 기인하지는 않는 것으로 생각된다. 압란유를 마우스에 투여한 후 비장세포의 T 세포 유형의 변화에서는 helper T(CD4⁺) 세포 및 suppressor T(CD8⁺) 세포의 증가는 보였으나 CD4⁺/CD8⁺ T 세포의 비는 변하지 않았으며, IL-2 수용체의 발현은 항진되었는데 이는 시험관내 활성화 뿐만아니라 생체내에서도 면역계를 활성화시킬 수 있음을 보여주는 결과로 기대된다. 탐식기능이 있는 단핵탐식세포계 세포를 활성화시킬 수 있는 세포가 생산하는 림포카인들의 자극을 받으면 탐식세포는 superoxide나 hydrogen peroxide와 같은 반응성 산소중간물질(reactive oxygen intermediate:ROI)이나 NO와 같은 반응성 질소중간물질(reactive nitrogen intermediate:RNI)을 생성하여 탐식한 세포내 미생물을 사멸시키거나 증식을 억제한다[6,10]. NO는 산화를 통하여 효소의 작용을 조절하고 혈소판의 기능과 신경전달기능 및 림프구 증식을 변화시켜 암세포와 미생물에 대한 대식세포의 세포독성을 매개한다. 또한 TNF-α는 활성화된 대식세포로부터 생산되는 물질로서 특정 암세포주에 대한 세포 독성과 항비이러

스 작용이 있고 급성 및 만성 염증 질환에서 일어나는 생체반응에도 중요한 역할을 하는 사이토카인이다[1,7]. 따라서, 압란유가 기회성 진균인 *C. neoformans*의 제거능에 미치는 영향을 실험한 결과 압란유 급식 마우스의 장기로부터의 *C. neoformans*의 검출이 감소하였고 압란유를 급식한 마우스에서 B16F10 세포의 폐전이 억제되었고 전이된 암세포의 증식도 대조군에 비하여 그 크기가 작았으므로 억제함을 알 수 있었다. 이는 T 세포에 의한 IL-2 및 IFN- γ 그리고 본 실험 결과 항진되었던 TNF- α 와 NO 외에도 복강대식 세포로부터의 IL-12, IL-15 등의 생산을 항진시켜 이에 의한 대식세포를 비롯한 면역계의 효과 세포들의 기능이 항진된 결과로 생각된다. 본 연구 결과 압란유를 이용한 항암제 또는 면역기능의 강화를 위한 면역반응 보조제로서의 개발 가능성이 기대되며 이를 기본 자료로 하여 이러한 기작들에 관한 연구가 앞으로 수행되어야 할 것이다.

요 약

압란유의 항암활성 및 면역반응조절자로서의 기능을 알아본 실험 결과, 마우스 비장세포의 증식반응은 항진시켰으나 YAC-1 세포주의 증식능은 억제시켰다. CD4⁺ T세포 및 CD8⁺ T세포의 비율이 정상대조군 마우스의 그것에 비하여 증가하였으나 CD4⁺/CD8⁺ 비는 차이가 없었으며 비장세포에서 IL-2 수용체의 발현이 항진되었다. 또한, 복강대식세포로부터의 nitric oxide와 TNF- α 생산을 항진시켰으며, 복강대식세포는 탐식능이 현저하게 항진되었고 B16F10 흑색종의 폐전이 억제됨을 알 수 있었다. 따라서, 압란유의 항암제 및 면역반응 조절자로서의 개발 가능성이 있음을 시사한다.

참 고 문 헌

- Gallagher, G., H. H. Richards, S. D. Campbell and M. Field. 1997. Polymorphisms in the TNF gene cluster and MHC serotypes in the West of Scotland. *Immunogenetics* **45**, 188-194.
- Griess, L. C., D. A. Wagner, J. Glogowski, P. L. Skipper, J. S. Wishnok and S. R. Tannenbaum. 1982. Analysis of nitrite, nitrite and ¹⁵N nitrate in biological fluids. *Anal. Biochem.* **126**, 131-138.
- Haberhausen, G., J. Pinsh, J. Kuhn and C. M. Hahn. 1998. Comparative study of different standardization concepts in quantitative competitive reverse transcription-PCR assays. *J. Clin. Microbiol.* **36**, 628-633.
- Higuchi, M. M., N. Higashi, H. Taki and T. Osawa. 1990. Cytolytic mechanisms of activated macrophages: Tumor necrosis factor and L-arginine-dependent mechanisms act synergistically as the major cytolytic mechanisms of activated macrophages. *J. Immunol.* **144**, 1425-1428.
- Klein, J. 1990. *Immunology*. pp. 1-16, Blackwell Scientific Publications. New York
- Lee, S. Y., C. D. Jun, K. I. Park and H. T. Change. 1996. Inhibition of phagocytic activity by nitrite oxide in murine peritoneal macrophages. *Korean. J. Immunol.* **18**, 625-634.
- Segal, A. W. 1989. The electron transfer chain of the microbicidal oxidase of phagocytic cells and its involvement in the molecular pathology of chronic granulomatous disease. *J. Clin. Invest.* **83**, 1785-1793.
- Yoon, H. L., C. B. Marcus and R. W. Pfeifer. 1993. Infection of superoxide by 12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate and taspigargin, a non-phorbol ester-type tumor promoter in peritoneal macrophages elicited from SENCAR and B6C3F1 mice: A permissive role for the arachidonic acid cascade in signal transduction. *Mol. Carcinog.* **7**, 116-125.
- Yoon, H. L., K. P. Singh, S. Ratner and J. J. Reiners Jr. 1996. Phorbol ester effects on splenic lymphocyte composition and cytotoxic T cell activities of SSIN mice: a strain deficient in CD8⁺ T cells. *Carcinogenesis* **17**, 2617-2624.
- Webb, G. C. and D. D. Haplin. 1990. Genetic variability at the human tumor necrosis factor loci. *J. Immunol.* **145**, 1278-1285.
- 김성훈, 유시용. 1996. 항암활성 수종생약의 B-16-Fo와 A549 암세포에 대한 항전이효과(I). *대한한의학회지* **17**, 111-131.
- 김하원. 1996. 임파구의 단백질 인산화에 미치는 영지의 효과. *대한면역학회지* **18**, 479-486.
- 신재용. 1992. 보약과 식생활. 동화 문화사. p. 8.
- 유태중. 1992. 식품보감. 서유출판. p. 28.
- 이상진, 유승원. 1994. 난유의 위력. 상원당출판사. p. 47.
- 허 준. 1975. 동의보감. 남산당. p. 378.

(Received December 17, 2001; Accepted January 24, 2002)