

Lectin으로 강화한 한국산 겨우살이 추출물의 *in vitro* 및 *in vivo*에서의 피부암에 대한 항암효과

황석연* · 양은영 · 여정훈 · 진지영 · 김현성 · 박원봉¹ · 서정진
건일제약(주), ¹서울여자대학교

Anti-tumor Effect of Korean Mistletoe Extract Intensified with Mistletoe Lectin against Melanoma Cells *in vitro* and *in vivo*

Suk Yeon Hwang*, Eun Young Yang, Jeong Hoon Yeo, Ji Young Jin, Hyun Sung Kim,
Won Bong Park¹, and Jung Jin Suh

Kuhnil Pharmaceutical Co. LTD., Cheon An 297-5, Korea

¹College of Natural Sciences, Seoul Women's University, Seoul 139-774, Korea

Abstract – The mistletoe lectins are major active components in the extract of *Viscum album* var. *coloratum*. This study was performed to investigate the anti-skin cancer effect of Korean mistletoe extract intensified with mistletoe lectin (KI 2103S). B16F10 melanoma cells were allografted in C57BL/6 mice and F344 rats. The effect of KI 2103S on melanoma was measured by monitoring tumor index. The KI 2103S was injected intra-tumorally and tumor index was decreased in dose dependent manner.

Key words – Lectin, *Viscum album* var. *coloratum*, B16F10, anti-skin cancer effect

겨우살이(mistletoe)는 유럽과 동양에서 오랜 세월동안 고혈압, 당뇨, 류마티즘, 종양 등을 다스리기 위해 민간요법으로 사용되어져 왔으며, 유럽에서는 건강과 축복을 가져다주는 신비의 식물로 추앙받고 있다. 겨우살이는 한국을 비롯하여 일본, 중국, 아프리카, 유럽 등지에 분포하며 열매의 색에 따라 종이 분류되어 진다. 한국산 겨우살이(*Viscum album* L. var. *coloratum*)는 겨우살이과 (Loranthaceae)에 속하며 참나무, 팽나무, 물오리나무, 밤나무 및 자작나무 등에 기생하는 늘푸른떨기나무로서 우리나라 전역에 분포하고 있다.¹⁾

지금까지 겨우살이에서 분리된 성분으로는 lectin, viscotoxin, flavonoid, triterpene, polysaccharide, alkaloid 등이 보고되었으며,²⁻⁶⁾ 그 중 주요 항암인자인 lectin의 연구결과 한국산(*Viscum album* L. var. *coloratum*)이 유럽산(*Viscum album* L.)에 비해 우수하거나 유사한 효능을 보였으며,^{7,8)} apoptosis를 유발시킴⁹⁻¹³⁾으로 항암효과를 발휘하는 것으로 알려졌다. 또한 윤¹⁴⁾등은 한국산 겨우살이 추출물이 IL1 및 TNF- α 를 유도하며, 강¹⁵⁾등은 한국산 겨우살이 벡틴에 대하여 독성 및

일반약리시험에 대하여 보고하였다. Bocci¹⁶⁾등은 유럽산 겨우살이의 cytokine 유도 및 면역보조제로서의 작용을 보고하였고, Mannel¹⁷⁾등은 유럽산 겨우살이의 tumor necrosis factor의 유도에 대하여 보고하였다. 특히 Zarkovic¹⁸⁾등은 유럽산 겨우살이의 B16F10 melanoma cell에 대한 저해효과를 보고하여 피부암에 대한 효과가 있음을 보고하는 등 겨우살이에 대하여 많은 생리활성이 보고되고 있는 실정이다. 또한 최근 한국산 겨우살이로부터 lectin을 고효율로 다량 분리할수 있는 방법¹⁹⁻²¹⁾이 개발되어 lectin의 활용 가능성에 관심이 높아지고 있다. 그러나 현재 임상적으로 이용되고 있는 약물은 복합 추출물이며, 순수한 lectin을 이용하는 것보다 효과가 더 우수한 것으로 알려져 있다. 또한, 순수한 lectin의 단독투여는 내성획득, 독성발현 등의 문제가 있을 뿐만 아니라, 순수한 lectin 용액은 추출물 중의 lectin보다 매우 불안정한 것으로 알려져 있다. 따라서 최근 lectin을 추출물에 첨가하여 lectin의 안정성을 높여 보다 우수한 항암활성제를 제조하려는 시도가 되어지고 있다.²²⁾ 따라서 본 연구에서는 겨우살이의 물추출물에 lectin을 첨가한 제제를 개발하여 피부암에 대하여 *in vitro*와 *in vivo*에서의 항암활성을 관찰하였기에 보고하고자 한다.

*교신저자(E-mail) : syhwang@kuhnil.com
(FAX) : 041-580-5808

실험재료 및 방법

실험재료 - 2002년 2월에 전북 남원에서 떡갈나무속 (*Quercus*)을 숙주나무로 하는 신선한 겨우살이를 구입하여 서울여대 박원봉 교수님의 확인을 받아 끝에서 2마디만 채취하여 -70°C deep freezer에 보관한 후 사용하였다.

추출 및 제조 - 냉동된 겨우살이 100 g을 녹즙기로 분쇄하고 Na_2HPO_4 및 ascorbic acid를 가하여 pH가 7.4로 조절된 정제수를 가하여 5 l로 표선 혼화하여 추출하고 원심분리 및 0.22 μm filter (Millipore)를 이용하여 여과하고 이 액을 KI 2103이라 하였다. KI 2103 9 ml에 lectin 1 ml를 첨가하여 KI 2103S (20 mg/ml)로 하였다.

Lectin의 추출 - 겨우살이 1 kg을 0.1 M acetate 완충용액 (pH 4.0) 4 l와 함께 분쇄기로 갈고 8,000 rpm에서 30분간 냉장원심분리한 1 l의 상등액에 양이온 교환수지인 SP-Sephadex C-50 3.5 g을 첨가한 후 4°C 에서 교반하여 12시간 방치시켰다. 이 겔을 크로마토그래피 컬럼에 충전시킨 후 0.1 M acetate 완충용액 (pH 4.0)으로 세척하고, 겔 속의 단백질을 0.1 M Tris-HCl 완충용액 (pH 8.0, 0.5 M NaCl)으로 용출시켰다. 용출시킨 단백질 흡착물을 UV ($\lambda_{\text{max}}=280\text{ nm}$)로 확인한 후 분획을 모아서 초여과막 (ultrafiltration membrane, MW=10,000Da, Amicon Corp)을 사용하여 농축하였다.

Asialofetuin-Sepharose 4B로 채워진 컬럼에 미정제 단백질 용액을 주입시키고 컬럼을 PBS 완충용액 (pH 8.7)으로 세척하였다. 그 컬럼에 흡착된 단백질을 0.2 M acetic acid로 용출시킨 후 용출된 흡착물을 UV ($\lambda_{\text{max}}=280\text{ nm}$)로 확인하여 피크를 나타내는 분획을 모아 초여과막 (ultrafiltration membrane, MW=10,000Da, Amicon Corp)으로 1 mg/ml이 되도록 농축하였다.

Lectin의 정량(enzyme-linked lectin assay; ELLA) - Lectin을 정량하기 위하여 한국산 겨우살이 lectin과 친화성이 강한 asialofetuin을 이용하였다. 먼저 asialofetuin (100 μl /well of 0.1 mg/ml in PBS)을 microtiter plate에서 하룻밤 배양한 후 PBST (PBS+0.05% Tween 20)로 세척한 후 lectin을 0-1000 ng/ml 사이에서 8가지의 농도로 희석하여 첨가하고 37°C 에서 1시간 배양한 후 PBST로 세척하였다. blocking 용액 (200 μl /well of 1% BSA in PBS)을 첨가하여 배양한 후 PBST로 세척하고 lectin으로 제조한 1차 항체 (primary antibody) 용액을 넣고 37°C 에서 1시간 배양한 후 PBST로 세척하였다. 2차 항체 (secondary antibody) 용액 (goat anti-rabbit IgG conjugated peroxidase solution)을 넣고 37°C 에서 1시간 배양한 후 PBST로 세척하고 과산화효소 기질 ABTS (2,2'-azinobis [3-ethylbenzothiazoline-6-

sulfonic acid]-다이암모늄염 (diammonium salt) [100 μl /well] 용액을 가하고 암실에서 20분간 발색시켰다. 마지막으로 1% SDS 100 μl /well로 반응을 정지시키고 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

세포주 및 세포배양 - 사용된 세포주 Vero, L1210, B16BL6, B16F10, T24, KB는 한국세포주은행(서울대)에서 분양받아서 사용하였으며, 세포배양기 (37°C , 5% CO_2)에서 10% fetal bovine serum (Gibco. Co.)이 포함된 DMEM, RPMI 1640, EMEM 배지를 사용하였고, 약 24시간 주기로 배양액을 교체하였다.

MTT assay - 먼저 배양된 cell에서 배지를 제거한 후 PBS를 첨가하여 가볍게 섞은 후, PBS를 다시 제거하고 trypsin/EDTA solution을 첨가하여 37°C 에서 5분간 배양하여 cell이 culture dish의 바닥으로부터 완전히 분리되었는지 현미경하에서 관찰한 후, culture 배지를 첨가하여 잘 혼합하여 cell수를 1×10^5 cell/ml로 조정하여 사용하였다. 시료는 PBS에 용해시킨 후 0.22 μm membrane filter로 여과한 후 사용한다. 준비된 cell을 96-well microtiter plate에 10^5 cells/well 농도로 접종하고, 시료를 투여한 후 37°C , 5% CO_2 incubator에서 72시간 배양한다. MTT 시약을 각 well에 50 μl 씩 첨가하여 MTT가 생존 암세포의 효소작용에 의해 환원되도록 4시간 더 배양한다. 원심분리하여 상등액을 제거하고, 하층부에 DMSO 100 μl 를 첨가해 생성된 formazan 결정을 용해시켜 540 nm에서 microplate reader로 흡광도를 측정하였다. 대조군에 대한 시험군의 세포 생존율을 계산하여 백분율로 계산하였으며 대조군에 대해 생존율이 50%가 되도록 하는 약물의 농도를 IC_{50} 로 하였으며 이를 항암효과 지표로 하였다.

In vivo assay - 6주령된 SPF (specific pathogen free) C57BL/6 mouse와 3주령된 F344 rat를 실험 전 실험실 환경에 적응시키기 위하여 2주간 순화과정을 거친 후 사용하였다. 실험실 환경은 NIH guide line에 따라서 하였으며 사료 및 음수는 자율적으로 섭취 가능케 하였으며 bedding과 SPF 동물용 사료는 (주)샘타코 코리아에서 입수를 하여 공급하였다.

Murine melanoma cell인 B16F10은 EMEM 배지에서 배양시키고 이를 세포수를 세어 C57BL/6 mouse의 경우 5×10^5 cells/0.2 ml, F344 Rat의 경우 1×10^6 cells/0.4 ml을 우측 옆구리에 접종하여 고형암을 유발시켰다. 암세포 접종 후 다음날부터 일주일에 2회씩, 총 4회 암세포 접종부위에 피하주사 (subcutaneous injection)를 하였으며, 종양이 육안으로 관찰되는 시기부터는 종양내주사 (intra-tumoral injection)로 KI 2103S를 투여하였으며 C57BL/6 mouse의 경우 0.2 ml F344 rat의 경우 0.5 ml씩을 PBS로 농도별로 희석하여 투여

하였다. 대조군에는 생리식염수를 각각의 약물 투여량과 동일하게 투여하였다.

접종 후 15일째 되는 날에 모든 개체를 부검하여 육안병리 검정을 하였으며 종양의 크기는 장축과 단축을 microcaliper 를 이용하여 Tumor Index로 고형암의 크기를 비교하였다.

$$\text{Tumor Index} = \text{Shortest Diameter} \times \text{Longest Diameter}$$

C57BL/6 mouse의 경우 암세포 접종 후 대조군과 시료투여군의 생존여부를 관찰하기 위해 21일째 되는 날에 살아 있는 개체로 Survival Rate를 구하였다.

$$\text{Survival Rate} = \frac{\text{Survival Heads}}{\text{Total Heads}} \times 100 (\%)$$

통계처리 - 실험결과는 동일시료에 대해 반복하여 얻은 결과를 통계처리하여 mean±S.D.로 나타내었다. 시료에 의한 효과는 student's *t*-test를 사용하여 유의차 검정을 하였다.

실험결과 및 고찰

추출물의 조제 및 lectin 정량

ELLA를 이용하여 한국산 겨우살이 추출물(KI 2103)과 lectin을 첨가시킨 겨우살이 추출물(KI 2103S)에 포함되어있는 lectin 농도를 측정된 결과, 겨우살이 추출물 1 mg/ml의 농도에서 KI 2103의 경우 약 686 ng/ml, KI 2103S의 경우

5.4 µg/ml의 lectin 농도를 나타내어 첨가된 lectin의 양만큼 정량되었음을 알 수 있었다.

In vitro 세포독성 효과

겨우살이 추출물의 세포독성효과를 알아보기 위하여 다양한 세포주에 겨우살이 추출물(KI 2103)과 lectin을 첨가한 겨우살이 추출물(KI 2103S)을 처리한 결과, KI 2103S의 IC₅₀ 값이 L1210의 경우 약 50배, B16BL6, B16F10, T24, KB에서는 대체적으로 첨가된 lectin의 비율만큼 KI 2103보다 높게 나타남을 알 수 있었다(Table I).

In vivo 항암효과

1) C57BL/6 mouse에서의 항암효과 - B16-F10 murine melanoma 세포를 이식한 C57BL/6 mouse에서 KI 2103S를 투여한 군에서는 비약물 처치군인 대조군에 비해 평균 35%에서 64% 정도 종양의 크기가 줄어드는 것을 확인할 수 있었다(Table II). 1군에서는 다른 실험 개체군들에 비해 거의 체표면의 피부괴사 등이 관찰되지 않았으나 종양성장 억제율은 35% 정도인 것을 확인할 수 있었다. 4군에서는 가장 확연하게 종양의 성장을 억제한 것을 볼 수 있었으나 약물 투여에 기인한 혈액성 가피의 형성이나 농성삼출물의 출현이 보였다. 3군에서는 4군과 거의 비슷한 수준으로 피부암에 항암효과를 보였으며 4군에 비해 체표면에 나타나는 부작용 및 피부괴사의 정도가 약하게 나타났다. 시험기간 동

Table I. Cytotoxic effect of water extract of *Viscum album* var. *coloratum* (KI2103) and water extract intensified with lectin (KI 2103S) against various cell lines

Cell lines	Tissue	IC ₅₀ ^{a)} (mean±S.D.)	
		KI 2103 (ug/ml)	KI 2103S (ug/ml)
Vero (normal)	Monkey kidney	2.4±0.6*	0.04±0.04
L1210	Mouse leukemia	1.5±0.4	0.02±0.02
B16BL6	Mouse melanoma	123.6±10.4**	15.2±0.2
B16F10	Mouse melanoma	101.4±9.7	19.4±0.2*
T24	Human bladder carcinoma	5.1±0.7	0.66±0.02
KB	Human mouth carcinoma	2.1±0.6	0.1±0.1

Values are the mean±S.D.

Significantly different from the control (**p*<0.05, ***p*<0.01).

^{a)} IC₅₀: The inhibitory concentration values, *i.e.*, drug concentration required to inhibit viability by 50%.

Table II. Antitumor activity of water extract (KI 2103S) of mistletoe intensified with mistletoe lectin in C57BL/6 female mouse transplanted with B16-F10 melanoma cells. Injection volume was 0.2 ml/animal

Group	Dose (µg/kg/day)	No. of mouse	Tumor index (mm ²) (mean±S.D.)	Inhibition of tumor growth (%)
Control	0	6	277.1±96.3	0
1	5	6	177.8±63.3**	35.8±12.7
2	10	6	132.9±37.0*	52.0±14.5
3	15	6	103.3±46.8*	62.7±28.4
4	30	6	99.2±28.7*	64.2±18.6

Significantly different from the control (**p*<0.05, ***p*<0.1).

Table III. Antitumor activity of water extract (KI 2103S) of mistletoe intensified with mistletoe lectin in F344 female rat transplanted with B16-F10 melanoma cells. Injection volume was 0.5 ml/animal

Group	Dose (µg/kg/day)	No. of mouse	Tumor index (mm ²) (mean±S.D.)	Inhibition of tumor growth (%)
Control	0	6	1028.7±77.0	0
1	5	6	655.9±99.2*	36.2±5.5
2	15	6	454.0±54.4*	55.9±6.7
3	30	6	246.4±68.4*	76.0±21.1

Significantly different from the control (**p*<0.001).

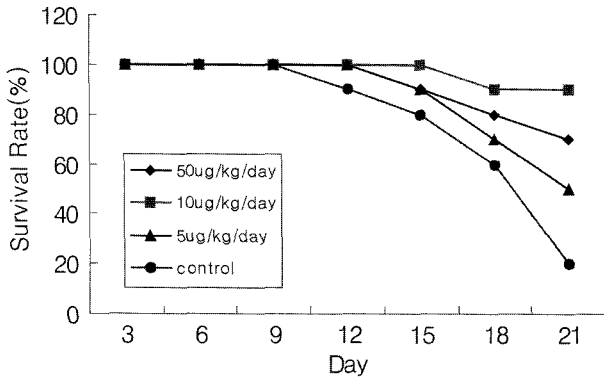


Fig. 1. Survival Rate of water extract (KI 2103S) of mistletoe intensified with mistletoe lectin in C57BL6 mouse transplanted with B16F10 cells. 5 µg/kg, 10 µg/kg and 50 µg/kg of KI 2103S were administrated to mice by intra-tumorally as described in experimental procedure.

안 전 시험개체군에서 사망례는 보이지 않았으며 체중은 정상적인 증가를 보였고 4군에서는 체중이 약간 감소되었다.

2) F344 rat에서의 항암효과 - B16-F10 murine melanoma 세포를 이식한 F344 rat에서 KI 2103S를 투여한 군에서는 비약물 처치군인 대조군에 비해 평균 36%에서 76%가량 종양의 크기가 줄어드는 것을 확인할 수 있었다(Table III). 1군에서는 다른 실험 개체군들에 비해 거의 체표면의 피부 피사 등이 관찰되지 않았으나 암성장 억제율은 36% 정도 되는 것을 확인할 수 있었다. 3군에서는 대조군에 비해 가장 뚜렷하게 종양의 성장을 억제하였으나 약물 투여로 인한 혈액성 가피의 형성과 농성 삼출물이 보였다. 시험기간 동안 전 시험개체군에서 사망례는 보이지 않았으며 3군은 약간의 체중감소를 보였으며 나머지 군들에서는 정상적인 체중 증가를 보였다.

3) Melanoma를 이식한 C57BL/6에서 KI-2103S를 투여하였을 때의 생존률 - B16-F10 murine melanoma 세포를 이식한 C57BL/6 mouse는 우측 옆구리에 흑색고형종이 성장해 나가면서 시간이 흐름에 따라 고형종이 더욱 성장을 하는 것을 볼 수 있었다. 2주가 지나고 접종 후 10일째 되는 날부터 체중의 감소를 보이던 개체들에서 폐사가 일어났다(Fig. 1). 이는 이식을 한 melanoma와 이들 세포들의 전

Table IV. Survival Rate of water extract (KI 2103S) of mistletoe intensified with mistletoe lectin in C57BL6 mouse transplanted with B16F10 cells. Injection volume was 0.2 ml/animal

Group	Dose (µg/kg/day)	No. of mouse	Final mortality	Survival rate (%)
Control	0	10	8/10	20
1	5	10	5/10	50
2	10	10	1/10	90
3	50	10	3/10	70

이 등으로 인한 폐사라 사료되었다. 대조군의 생존률은 20% 정도였으며, KI-2103S를 농도별로 각 개체군에 투여하였을 때는 50%~90%까지 증가함을 알 수 있었다. 3군에서는 폐사한 개체들은 항암효과는 있었으나 과도한 양의 약물을 투여하여 폐사한 것으로 사료된다. 이들을 미루어 볼 때 KI 2103S를 투여한 쥐에서 생명이 연장됨을 확인할 수 있었다 (Table IV).

이상의 사실은 유등⁸⁾이 렉틴 단일성분보다 한국산 겨우살이 추출물에 렉틴을 첨가하면 viscotoxin, flavonoids와 같은 다른 물질들에 의해 항암효과가 배가되며, 특히 국소적 용이 가능한 암에 대하여 적용가능성이 높다²²⁾는 결과와 일치하고 있으며 그 중 국소적용이 가능한 피부암에 대하여 항암효과를 평가한 결과 C57BL/6 mouse와 F344 rat에 이식한 B16F10 melanoma에 대하여 용량의존적으로 고형암의 감소를 관찰할 수 있었으며, C57BL/6 mouse에서의 생존률 측정결과 50-90%까지의 생존률 증가를 관찰할 수 있었다.

사 사

본 연구는 2002년도 중소기업 이전기술개발사업 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. 이영노(2003) 원색한국식물도감, 92-95, 교학사, 서울.
2. Fukunaga, T., Kajikawa, I., Nishiya, K., Watanabe, Y., and

- Takeya, K. (1987) Studies on the constituents of the European mistletoe, *Viscum album* L. *Chem. Pharm. Bull.* **35**: 3292.
3. Lee, R. T., Gabius, H. J., and Lee, Y. C. (1992) Ligand binding characteristics of the major mistletoe lectin. *J. Biol. Chem.* **267**: 2372.
 4. Jordan, E. and Wagner, H. (1986) Structures and properties of polysaccharides from *Viscum album*. *Oncology.* **43** (Suppl 1), 8.
 5. Khwajawa, T. A., Dias, D. B., and Pentecost, S. (1986) Recent studies on the anticancer activities of mistletoe and its alkaloids. *Oncology.* **43** (Suppl 1), 42.
 6. 최상진, 권학철, 정애경, 최상운, 김경란, 이선미, 표석능, 이강노(2001) 상기생의 트라이테르펜 및 페놀성 성분, 약학회지 **45**(6): 591-598.
 7. Park, W. B., Choung, B.Y., Park, S. M., Lee, T. S., Kim, J. H., and Ham, S. S. (1999) Antitumor activities of extracts and Lectin from *Viscum album* L. and *Viscum album* var. *coloratum* on cultured HL-60 cells, *Food Sci. Biotechnol.* **8**(4): 232-237.
 8. Lyu, S. Y., Park, S. M., Choung, B. Y., and Park, W. B. (2000) Comparative study of korean (*Viscum album* var. *coloratum*) and european mistletoe (*Viscum album*), *Arch. Pharm. Res.* **23**(6): 592-598.
 9. Lyu, S. Y., Park, W. B., Choi, K. H., and Kim, W. H. (2001) Involvement of caspase-3 in apoptosis induced by *Viscum album* var. *coloratum* agglutinin in HL-60 cells, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **65**(3): 534-541.
 10. Park, W. B., Choung, B. Y., Park, S. M., Kim, H. S., and Lyu, S. Y. (1999) Effects of drying of mistletoe on cytotoxicities against cultured HL-60 and Molt-4 cells, *Food Sci. Biotechnol.* **8**(6): 391-396.
 11. Park, W. B., Lyu, S. Y., Kim, J. H., Choi, S. H., Chung, H. K., Ahn, S. H., Hong, S. Y., Yoon, T. J., and Choi, M. J. (2001) Inhibition of tumor growth and metastasis by Korean mistletoe lectin is associated with apoptosis and antiangiogenesis, *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals* **16**(5).
 12. Lyu, S. Y., Choi, S. H., and Park, W. B. (2002) Korean mistletoe lectin-induced apoptosis in hepatocarcinoma cells is associated with inhibition of telomerase via mitochondrial controlled pathway independent of p. 53, *Arch. Pharm. Res.* **25**(1): 93-101.
 13. Bussing, A. and Schietzel, M. (1999) Apoptosis-inducing properties of *Viscum album* L. extracts from different host trees, correlate with their content of toxic mistletoe lectins, *Anticancer Research* **19**: 23-28.
 14. 윤택준, 유영춘, 홍은경, 조영호, 이석원(1994) I. Azuma, 유보림, 김종배, 마우스 Macrophage의 IL1 및 TNF-a의 분비유도에 있어서 한국산 겨우살이 추출물이 미치는 영향, 생약학회지 **25**(2): 132-139.
 15. 강태봉, 윤택준, 김종배, 송성규, 이관희, 곽진환(2001) 한국산 겨우살이로부터 정제된 렉틴성분 KML-IIU의 예비 독성 및 일반약리시험, 약학회지 **45**(3): 251-257.
 16. Bocci, V. (1993) Mistletoe (*Viscum album*) lectins as cytokine inducers and immunoadjuvant in tumor therapy. A review., *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* **7**(1): 1-6.
 17. Mannel, D. N., Becker, H., Gundt, A., Kist, A., and Franz, H. (1991) Induction of tumor necrosis factor expression by a lectin from *Viscum album*, *Cancer Immunol Immunother* **33**(3): 177-82.
 18. Zarkovic, N., Zarkovic, K., Grainca, S., Kissel, D., and Jurin, M. (1997) The *Viscum album* preparation Isorel inhibits the growth of melanoma B16F10 by influencing the tumor-host relationship, *Anticancer Drugs* **S17**-22.
 19. Park, W. B., Ju, Y. J., and Han, S. K. (1998) Isolation and characterization of β -galactoside specific lectin from Korean mistletoe (*Viscum album* var. *coloratum*) with lactose-BSA-sepharose 4B and changes of lectin conformation, *Arch. Pharm. Res.* **21**(4): 429-435.
 20. 박원봉, 김희숙, 나혜복, 함승시(1995) 유산균 발효에 의한 겨우살리 중의 렉틴 성분의 변화 : pH, 온도의 영향, 당 특이성, 림프구 자극분열효과, 약학회지 **39**(1): 24-30.
 21. Park, W. B., Han, S. K., Lee, M. H., and Han, K. H. (1997) Isolation and characterization of lectins from stem and leaves of korean mistletoe (*Viscum album* var. *coloratum*) by affinity chromatography, *Arch. Pharm. Res.* **20**(4): 306-312.
 22. Lyu, S. Y., Rhim, J. Y., Moon, Y. S., Jung, S. H., Lee, K. Y., and Park, W. B. (2002) Antitumor activities of extract of *Viscum album* var. *coloratum* modified with *Viscum album* var. *coloratum* agglutinin, *Natural Product Sciences* **8**(4): 155-16.

(2003년 6월 13일 접수)