

한국산 겨우살이 분획물의 면역세포의 생육증진 및 세포독성

이소진 · 이미경 · 최근표* · 유창연** · 노성규*** · 김종대 · 이현용 · 이진하†

강원대학교 바이오산업공학부, *강원전문대학 식품생명과학과
강원대학교 농업생명과학대학 식물응용과학부, *강원대학교 체육학부

Growth enhancement and cytotoxicity of Korean mistletoe fractions on human cell lines

So Jin Lee, Mi Kyoung Lee, Geun Pyo Choi*, Chang Yeon Yu**
Seong Kyu Roh***, Jong Dai Kim, Hyeon Yong Lee and Jin Ha Lee†

School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea,

*Dept. Food & Life Science, Gangwon Provincial University, Gangneung, Korea,

**Division of Applied Plant Science, College of Agriculture and Life Science, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea,

***Dept. Physical Education, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

ABSTRACT : The biological activities on human immune and cancer cell lines of the four kinds of *Korean mistletoes* (*Korean Viscum album*, var. *coloratum*, : *Korean Viscum* sp. in *Quercus acutissima* Carr., *Korean Viscum* sp. in *Castanea crenata*, *Korean Viscum* sp. in *Betula platyphylla*, and *Korean Viscum* sp. in *Salix koreensis*) extracts were investigated. The extracts were prepared with ethanol, and fractionated with n-butanol, ethyl acetate, chloroform, hexane, and second distilled water. Cytotoxic potencies of the fractions on human normal lung cell line (HEL 299) showed under 28% in the concentration of 0.5 mg/ml. Growth inhibition effect of the *Korean mistletoe* extracts on the several human cancer cell lines depends on the concentration of the extracts, and extracting solvent. The hexane, chloroform, and ethyl acetate fractions indicated a strong anticancer activity, but not in aqueous and butanol fractions. Some mistletoe fractions have a different characteristic on the cancer cell lines. Stimulation on the growth of human immuno cell lines (B cell : Raji, T cell : Jurkat) of the extracts were confirmed in the ethyl acetate, chloroform, hexane fractions, but not in aqueous system.

Key words : Cytotoxicity effects, anticancer activity, human B & T cells

서 언

지금까지 개발된 화학 항암제는 임상적으로 사용할 때 여러 가지의 부작용이 있어 보다 효과가 탁월한 암 치료제를 개발하는 것이 절실히 요구되고 있는 실정이다. 이에 따라 최근에는 각종 천연자원으로부터 새로운 항암 성분을 탐색하고 이를 이용하여 항암제를 개발하려는 많은

연구가 진행되고 있다. 국내에서 사용되는 항암제 원료는 그 동안 거의 수입되어 왔으나 80년대 중반부터 일부 항암제의 국내원료 생산이 시작되었다. 국내의 경우에는 대부분이 기존의 합성화합물을 모핵으로 각종 치환기를 도입, 유도체를 합성하여 항암제 개발을 하고 있으나 천연물 항암제 개발은 드문 편이다. 최근, 미국 국립암화학요법센터 (Cancer Chemotherapy National Service

† Corresponding author(phone) : 033-250-6454, E-mail : Jinhalee@kangwon.ac.kr
Received 10 January 2003 / Accepted 19 February 2003

Center, CCNSC)에서는 대규모로 세계의 약 12만종의 식물에 대한 약효검색을 실시한 결과, 겨우살이가 암치료를 위한 가장 유력한 식물로 기대된다고 보고한 바 있다 (Becker, 1986; Hajto *et al.*, 1990; Jassen *et al.*, 1993; Lee *et al.*, 1992; Salzer *et al.*, 1986; Vester *et al.*, 1968).

산야에 자생하고 있는 기생식물들은 척박한 외부환경을 이겨내야 하므로 생명력이 강하며, 이러한 환경을 극복하기 위한 특수성분은 강력한 생리활성 효과와 관계가 있는 것으로 추측되고 있다. 기생식물 중 추운 겨울에도 잘 자라는 겨우살이는 *Loranthaceae* (겨우살이과)에 속하며, 주로 온대~열대에 분포하고 있다. 이 식물은 스스로 엽록소를 가지고 광합성하면서, 한편에서는 숙주식물에서 영양을 흡수하여 생활한다. 또한, 가을에 녹색의 열매를 맺으며, 참나무, 오리나무, 밤나무, 동백나무 등의 나뭇가지 위에 등에 붙어사는 반기생식물이다. 겨우살이는 세계적으로 1500여종이 있는데, 성장지역, 숙주식물의 종류, 채취시기 등에 따라 성분에 차이가 있다. 1920년경부터 암치료제로 개발되어 임상적으로 사용되어 온 유럽산 겨우살이 (*Viscum album*)는 부작용이 거의 없으면서 모든 암에 우수한 항암효과를 발휘하는 것으로 알려져 왔는데, 이 제제는 암으로 인한 통증의 감소, 방사선 및 화학요법시의 부작용 감소, 암의 소실 및 재발 방지, 수면연장 등 암환자의 삶의 질을 향상시키는 탁월한 효과가 있는 것으로 알려져 있다 (Evans & Preece, 1973; Hajto *et al.*, 1989; Tasneem *et al.*, 1986). 이 제제는 lectin, viscotoxin 등 각종 활성성분이 함유되어 있으며, apoptosis에 의한 암세포의 사멸 및 면역활성화 등의 작용에 의하여 효과를 발휘하는 것으로 알려져 있다. 항암활성에 가장 중요한 성분은 lectin으로, 지금까지 3종류가 보고되었다 (Franz *et al.*, 1982a; Franz, 1986b; Kanner, 1939; Park, 1998; Peifler *et al.*, 1993). 그러나, 임상적으로 쓰이는 약물은 순수한 성분이 아니라 물추출물이며 여러 가지 성분이 복합적으로 함유되어 있어서 민간약으로 간주되고 있다.

한국의 산야에 자생하는 한국산 겨우살이 (Korean *Viscum album*, var. *coloratum*)는 열매가 백색인 유럽산과는 달리 황색이며, 식물의 모양 및 성분에도 유럽산과 차이가 많다. 한방명으로는 기생목(寄生木), 상기생(桑寄生) 등으로 부르는데, 항암, 항고혈압, 항균, 항바이러스, 강심 등의 효과를 갖고 있는 것으로 보고된 바 있다. 또한 한국산 겨우살이는 겨우살이 특유의 alkaloid를 함유하고 있어서 유럽산 겨우살이에 비하여 높은 활성을 갖는다고 보고된 바 있으나 과학적인 증거가 필요하다 (Ham *et al.* 1998; Park *et al.*, 1994a; Park *et al.*, 1994b; Park *et*

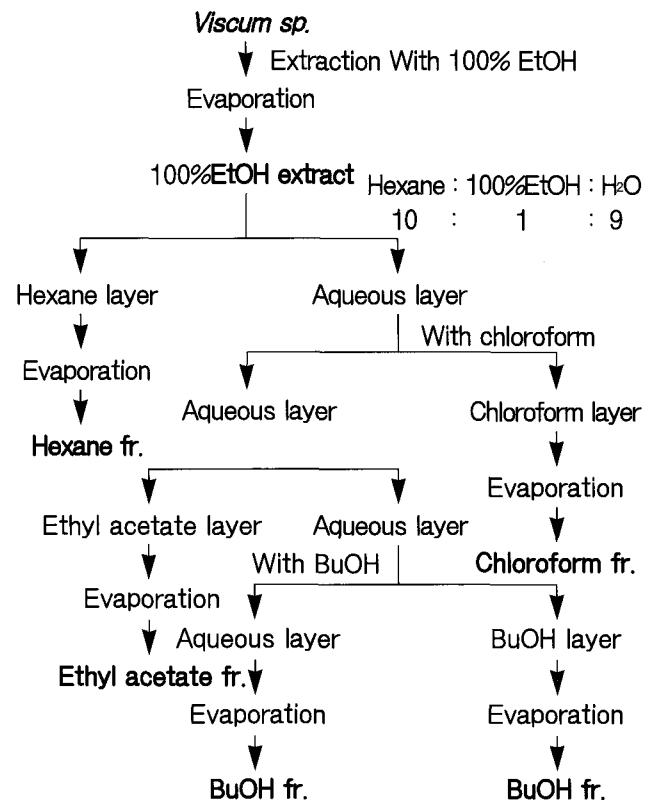
al., 1995c; Park *et al.*, 1997d; Park *et al.*, 1998e; Yoon *et al.*, 1994a; Yoon *et al.*, 1995b; Yoon *et al.*, 1997c).

따라서 본 연구는 기주목(상수리나무, 밤나무, 자작나무, 버드나무)별 겨우살이 ethanol 추출물의 5가지 분획물(hexane fr., chloroform fr., ethyl acetate fr., butanol fr., aqueous fr.)에 대한 *in vitro*에서 면역세포에 대한 생육활성, 정상세포에 대한 세포독성, 여러 가지 암세포에 대한 생육에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료 및 추출방법

본 실험에 사용된 한국산 겨우살이 (Korean *Viscum album*, var. *coloratum*)는 강원도 평창 지역에서 2001년도 겨울에 채집한 것으로 기주목에 따라 상수리나무 겨우살이 (Korean *Viscum sp.* in *Quercus acutissima* Carr.), 밤나무 겨우살이 (Korean *Viscum sp.* in *Castanea crenata*), 자작나무 겨우살이 (Korean *Viscum sp.* in *Betula platyphylla*), 버드나무 겨우살이 (Korean *Viscum sp.* in *Salix koreensis*) 등 총 4종의 겨우살이를 물로 깨끗이 세척 한 후 자연 건조하였다. 겨우살이의 잎과 가지를 모두 사용하여 수직의 환류 냉각기가 부착된 추출



Scheme 1. Fraction process of the Korean *Viscum sp.*

flask에 시료 중량 100g 에 대하여 10배의 100% ethanol 로 24시간 동안 2회 반복 추출하였다. 얻어진 각각의 추출 물들은 감압 여과장치로 여과하여 농축 후 동결건조 한 후 이를 이용하여 극성에 따라 분별분리를 행하여 hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol 및 H₂O로극성의 차이에 의해 다섯 가지 분획으로 조제하였다. 분리된 용매 분획물은 농축시켜 시료를 얻었다. 그 방법은 Scheme 1.에 나타내었다. 각각의 분획물의 수율을 계산하여 실험에 사용하였다.

2. 암세포의 성장저해 및 독성 실험

실험에 이용한 세포주는 사람 암세포주로 사람 간암세포주인 Hep 3B (hepatocellular carcinoma, human, ATCC HB-8064), 사람 폐암세포주인 A549(lung carcinoma, human, ATCC CCL-185), 사람 위암세포주인 AGS (stomach adenocarcinoma, human, ATCC CRL-1739), 사람 유방암세포주인 MCF-7(breast adenocarcinoma, human, ATCC HTB-22)를 사용하였고 시료 자체의 세포 독성을 알아보기 위한 정상세포주에는 사람 폐세포주인 HEL 299(embryo lung cell, human, ATCC CCL-137)를 사용하였다. 실험에 사용된 세포주들 중 Hep 3B, MCF-7 는 DMEM(GIBCO, USA)배지를 A549, AGS, HEL 299는 RPMI 1640(GIBCO, USA)배지에서 10% FBS로 각각 적응 시켜기 incubator(37°C, 5% CO₂, 98% humidity)에서 배양 하였다. 실험에 사용한 세포의 초기 농도는 4×10⁴ cells/ml의 농도로 조절하여 96well tissue culture microplate에 100μl/well씩 접종하여 사용하였다. 암 세포의 생육저해와 정상세포의 세포독성은 sulforhodamineB (SRB)방법을 이용하였다(Doyle *et al.*, 1993; Dool *et al.*, 1981). 정상세포에 대한 시료의 특성을 조사하기 위하여 행한 selectivity 측정은 정상세포주(HEL 299)에 대한 여러가지 sample 농도에서 세포 독성을 측정하고, 각 암 세포주에 대한 생육 억제 활성을 조사하여 각 농도에서의 세포 독성에 대한 암세포 생육 억제 활성의 비로 selectivity 를 계산한다.

3. 면역세포의 생육에 대한 영향

면역 기능 증강 효과는 사람 면역 세포인 T 세포주 (Jurkat, ATCC TIB-152)와 B 세포주 (Raji, ATCC CCL-89)를 이용하여 검증하였다(Byung Hoon Han *et al.*, 1998; 윤 등., 1994). 세포의 생육은 10% FBS를 함유하는 RPMI 1640 배지에서 incubator(37°C, 5% CO₂, 98% humidity)에서 배양하였다. 면역세포의 생육에 미치는 영향을 세포의 농도를 2.0×10⁴cells/ml로 첨가하여 24well plate에 넣고 24시간 후 T cell의 경우는 시료를 0.2μm의

filter로 여과하여 0.25mg/ml의 농도로 B cell의 경우는 0.5mg/ml의 농도로 첨가하고 8일간 배양하였다. 배양 후 hemocytometer로 세포 수를 측정하였다. 그리고 이것은 겨우살이 추출물들을 처리하지 않은 대조구와 비교하여 세포의 생육과 세포 수에 따라 면역활성을 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 추출 수율

4종의 한국산 겨우살이(Korean *Viscum sp.*)추출물을 사용하여 Fig. 1의 분획 과정을 통하여 각각 다섯 가지의 분획물(hexane fr., chloroform fr., ethyl acetate fr., butanol fr., aqueous fr.)을 얻어 수율을 비교하였다(Table 1).

Table 1. The extraction yields of each solvent fraction from Korean *Viscum sp.*

Samples	Step-wise fractionation of ethanol extracts	Yields(%)
Korean <i>Viscum sp.</i> (in <i>Quercus acutissima</i> Carr.)	Hexane	25.2
	Chloroform	2.8
	Ethyl acetate	4.7
	Butanol	25.7
	Aqueous	22.3
Korean <i>Viscum sp.</i> (in <i>Castanea crenata</i>)	Hexane	18.4
	Chloroform	2.64
	Ethyl acetate	4.7
	Butanol	20.7
	Aqueous	32
Korean <i>Viscum sp.</i> (in <i>Betula platyphylla</i>)	Hexane	30.2
	Chloroform	2.1
	Ethyl acetate	5
	Butanol	28.9
	Aqueous	34.9
Korean <i>Viscum sp.</i> (in <i>Salix koreensis</i>)	Hexane	28.4
	Chloroform	4
	Ethyl acetate	4.8
	Butanol	28.7
	Aqueous	23.21

2. 겨우살이 분획물들의 세포독성

4종의 한국산 겨우살이 분획물들의 정상세포에 대한 세포독성을 측정한 결과는 Table 2에 나타내었다. 밤나무 겨우살이 chloroform fr.은 0.5mg/ml농도에서 28%의 세포독성을 보였다. 다른 겨우살이 분획물들의 세포독성은

Table 2. Cytotoxicity of the each solvent fraction from Korean *Viscum sp.* on normal cell line, HEL 299 (human embryo lung cell).

Samples	Concentration (mg/ml)	Cytotoxicity(%)				
		Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Butanol	Aqueous
Korean <i>Viscum sp.</i> (in <i>Quercus acutissima</i> Carr.)	0.05	0	0	0	0	0
	0.1	4	3	0	5	0
	0.5	14	17	20	13	0
	1.0	27	28	25	23	5
Korean <i>Viscum sp.</i> (in <i>Castanea crenata</i>)	0.05	0	0	0	0	0
	0.1	0	4	0	6	0
	0.5	18	28	14	17	5
	1.0	29	35	28	28	7
Korean <i>Viscum sp.</i> (in <i>Betula platyphylla</i>)	0.05	0	0	0	0	0
	0.1	0	0	0	0	0
	0.5	10	20	10	11	2
	1.0	25	30	15	20	5
Korean <i>Viscum sp.</i> (in <i>Salix koreensis</i>)	0.05	0	0	0	0	0
	0.1	1	2	0	0	0
	0.5	10	20	17	4	6
	1.0	22	32	35	18	9

20%이하로 나타났으며, 같은 농도에 대하여 aqueous fr. 제외한 4종의 겨우살이 분획물들에서 대부분 50~80%의 암세포 생육저해능이 나타났다.

3. 암세포에 대한 생육억제 효과

각 겨우살이 분획물들의 암세포에 대한 생육 저해능은 Table 3, 4, 5, 6에서 각각 나타내었다. 암세포의 생육을 80%이상 저해하는 것은 상수리나무 겨우살이(0.5mg/ml) hexane fr.이 폐암세포주 A549에 대하여 89%, hexane fr.과 ethyl acetate fr.이 위암세포주 AGS에 대하여 각각 87, 92%, acetate fr.이 간암세포주 Hep3B에 대하여 84%의 생육저해능을 나타냈다. 밤나무 겨우살이 (0.5mg/ml) hexane fr.과 chloroform fr.이 폐암세포주 A549에 대하여 각각 83, 92%, hexane fr., chloroform fr., acetate fr.이 위암세포주 AGS에 대하여 각각 87, 81, 89%의 생육저해능을 나타냈다. 자작나무 겨우살이 (0.5mg/ml) hexane fr.과 ethyl acetate fr.이 간암세포주 Hep 3B에 대하여 각각 80, 93%의 생육저해능을 나타냈다. 버드나무 겨우살이(0.5mg/ml)의 경우 hexane fr.과 chloroform fr.에서 폐암세포주 A549에 대하여 각각 90, 94%, hexane fr., chloroform fr., acetate fr.에서 위암세포주 AGS에 대하여 각각 88, 89, 93%의 생육저해능을 나타냈다. 또한 각 추출물이 정상세포 독성에 대한 암세포의 억제율을 나타내는 selectivity에 있어서 각 추출물

이 0.5mg/ml의 농도에서 3~9.3의 수치를 나타내어 한국산 겨우살이 ethanol추출물이 폐암세포주 A549와 위암세포주 AGS에 대하여 선택적으로 사멸하는 특이성을 지닌 것이 확인되었다. 유방암세포인 MCF7에 대하여 겨우살이 분획물의 생육 저해능과 선택적 사멸도를 나타낸 것으로, 다른 암세포의 생육 저해능에 비하여 활성이 비교적 낮은 것으로 관찰되었다.

4. 면역활성 탐색 결과

한국산 겨우살이 분획물들이 암세포에 대한 선택적 사멸 기작을 갖고 있는 것으로 확인되어 이 겨우살이들이 인간 면역체계에서 항체 생성의 중요한 역할을 하는 사람 B(Raji)와 T(Jurkat) 세포주의 생육촉진 실험 결과를 Fig. 2와 3, 그리고 Table 7에 각각 나타내었다. 사람 B(Raji)와 T(Jurkat) cell 모두 비교적 정상세포에 대한 독성이 낮다고 사료되는 0.5mg/ml 이하의 농도에서 실험을 수행하였다. Data는 제시하지 않았으나 예비실험 결과에서 사람 B 세포에 대하여 모든 겨우살이 분획물 0.25mg/ml의 농도에서 세포 생육활성이 높았고, 사람 T 세포에 대하여는 모든 겨우살이 추출물 0.5mg/ml의 농도에서 높은 세포 생육활성을 보였기 때문에 각 세포에 대하여 그 농도를 적용하여 실험을 행하였다.

Fig. 2는 B 세포에 대하여 상수리나무 겨우살이 분획물들의 생육촉진을 나타낸 것으로, 배양 1에서 3일 사이에

Table 3. Inhibition ratio of growth of A549 (lung carcinoma, human) and selectivity of the each fraction from Korean *Viscum sp.*

Samples	Concentration (mg/ml)	Inhibition ratio(%)					Selectivity				
		Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Butanol	Aqueous	Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Butanol	Aqueous
Q.c	0.05	11	10	1	8	1	-	-	-	-	-
	0.1	31	31	2	25	4	7.8	10.3	-	5	-
	0.5	89	53	58	64	9	6.4	3.1	2.9	4.8	-
	1.0	92	85	95	81	9	3.4	3	3.8	3.5	1.8
C.c	0.05	20	15	17	15	2	-	-	-	-	-
	0.1	24	44	39	44	10	-	-	-	7.3	-
	0.5	83	92	51	60	15	6.4	3.3	3.6	3.5	3
	1.0	91	94	86	85	20	3.1	2.7	3.1	3	2.9
B.p	0.05	1	20	11	25	4	-	-	-	-	-
	0.1	34	38	27	31	5	-	-	-	-	-
	0.5	46	71	48	40	16	4.6	3.6	4.8	3.6	8
	1.0	63	82	53	47	35	2.5	2.7	3.5	2.4	7
S.k	0.05	27	27	3	18	46	-	-	-	-	-
	0.1	50	43	30	28	66	-	-	-	-	-
	0.5	90	94	72	55	71	9	4.7	4.7	13.8	11.8
	1.0	97	95	95	67	74	4.4	3	3	3.7	8.2

Q.c : Korean *Viscum sp.* (in *Quercus acutissima* Carr.)
 B.p : Korean *Viscum sp.* (in *Betula platyphylla*)

C.c : Korean *Viscum sp.* (in *Castanea crenata*)
 S.k : Korean *Viscum sp.* (in *Salix koreensis*)

Table 4. Inhibition ratio of growth of AGS (stomach adenocarcinoma, human) and selectivity of the each fraction from Korean *Viscum sp.*

Samples	Concentration (mg/ml)	Inhibition ratio(%)					Selectivity				
		Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Butanol	Aqueous	Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Butanol	Aqueous
Q.c	0.05	12	7	13	15	1	-	-	-	-	-
	0.1	13	21	18	18	6	3.3	7	-	3.6	-
	0.5	87	68	92	30	13	6.2	4	4.6	2.3	-
	1.0	91	75	93	65	22	3.4	2.8	3.7	2.8	4.4
C.c	0.05	7	15	5	3	4	-	-	-	-	-
	0.1	16	21	25	18	17	-	5.3	-	3	-
	0.5	87	81	89	45	26	4.8	3	6.4	2.6	5.2
	1.0	88	88	91	75	65	3	2.5	3.3	2.7	9.3
B.p	0.05	6	11	16	1	5	-	-	-	-	-
	0.1	20	15	21	7	10	-	-	-	-	-
	0.5	40	48	61	34	14	4	2.4	6.1	3.1	7
	1.0	68	88	69	70	26	2.7	2.9	4.6	3.5	5.2
S.k	0.05	4	5	13	1	4	-	-	-	-	-
	0.1	19	6	30	2	8	1.9	-	-	-	-
	0.5	88	89	93	22	25	8.8	4.5	5.5	5.5	4.2
	1.0	92	95	95	72	56	4.2	3	2.7	4	6.2

Q.c : Korean *Viscum sp.* (in *Quercus acutissima* Carr.)
 B.p : Korean *Viscum sp.* (in *Betula platyphylla*)

C.c : Korean *Viscum sp.* (in *Castanea crenata*)
 S.k : Korean *Viscum sp.* (in *Salix koreensis*)

Table 5. Inhibition ratio of growth of Hep 3B (hepatocellular carcinoma, human) and selectivity of the each fraction from Korean *Viscum sp.*

Samples	Concentration (mg/ml)	Inhibition ratio(%)					Selectivity				
		Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Butanol	Aqueous	Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Butanol	Aqueous
Q.c	0.05	7	13	16	12	1	-	-	-	-	-
	0.1	21	21	21	20	25	5.3	7	-	4	-
	0.5	59	55	84	55	29	4.2	3.2	4.2	3.4	-
	1.0	84	79	86	79	42	3.1	2.8	3.4	2.7	8.4
C.c	0.05	8	17	8	17	7	-	-	-	-	-
	0.1	8	28	39	28	17	-	7	-	5.5	-
	0.5	38	66	77	66	20	2.1	2.4	5.5	2.5	4
	1.0	63	79	87	79	39	2.2	2.3	3.1	1.8	5.6
B.p	0.05	6	11	16	6	6	-	-	-	-	-
	0.1	22	14	35	9	20	22	-	-	-	-
	0.5	80	55	93	36	39	8.8	2.8	9.3	3.3	19.5
	1.0	93	72	95	51	42	4.2	2.4	6.3	2.6	8.4
S.k	0.05	9	12	5	4	11	-	-	-	-	-
	0.1	21	20	6	10	17	21	10	-	-	-
	0.5	52	57	60	21	27	5.2	2.9	3.5	5.3	4.5
	1.0	86	83	88	39	44	3.9	2.6	2.5	2.2	4.9

Q.c : Korean *Viscum sp.* (in *Quercus acutissima* Carr.)

C.c : Korean *Viscum sp.* (in *Castanea crenata*)

B.p : Korean *Viscum sp.* (in *Betula platyphylla*)

S.k : Korean *Viscum sp.* (in *Salix koreensis*)

Table 6. Inhibition ratio of growth of MCF-7 (breast adenocarcinoma, human) and selectivity of the each fraction from Korean *Viscum sp.*

Samples	Concentration (mg/ml)	Inhibition ratio(%)					Selectivity				
		Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Butanol	Aqueous	Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Butanol	Aqueous
Q.c	0.05	9	1	7	13	0	-	-	-	-	-
	0.1	14	10	8	28	1	6.3	3.3	-	5.8	-
	0.5	26	51	60	38	6	5	3	3	2.9	-
	1.0	71	97	97	55	9	3.6	3.5	3.9	2.4	1.8
C.c	0.05	1	4	9	12	8	-	-	-	-	-
	0.1	10	23	22	18	12	-	5.8	-	3	-
	0.5	33	51	68	27	18	1.8	1.8	4.9	1.6	3.6
	1.0	77	78	98	43	20	2.7	2.2	3.5	1.5	2.9
B.p	0.05	5	3	9	4	4	-	-	-	-	-
	0.1	8	10	11	7	8	-	-	-	-	-
	0.5	40	47	44	17	19	4	2.4	4.4	1.5	9.5
	1.0	94	96	95	59	20	3.8	3.2	6.3	3	4
S.k	0.05	6	3	4	3	1	-	-	-	-	-
	0.1	13	9	6	4	2	13	4.5	-	-	-
	0.5	52	69	46	22	14	5.2	3.4	2.7	5.5	2.3
	1.0	96	97	95	49	26	4.3	2.9	2.8	2.7	2.9

Q.c : Korean *Viscum sp.* (in *Quercus acutissima* Carr.)

C.c : Korean *Viscum sp.* (in *Castanea crenata*)

B.p : Korean *Viscum sp.* (in *Betula platyphylla*)

S.k : Korean *Viscum sp.* (in *Salix koreensis*)

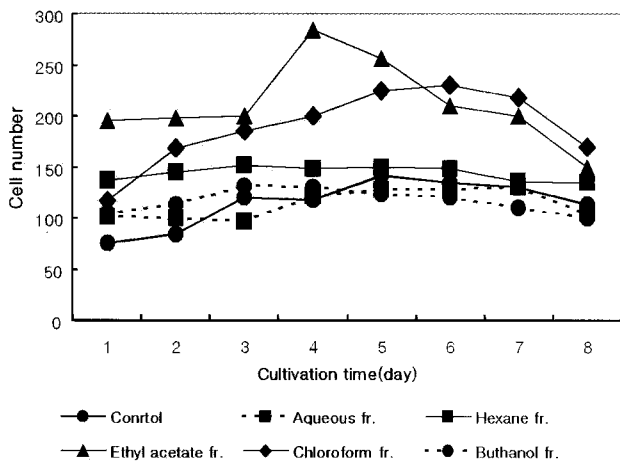


Fig. 1. The cell growth of human B(Raji) cell line of each fraction (0.5mg/ml) from Korean *Viscum sp.* using hemocytometer (2500 μm^2)

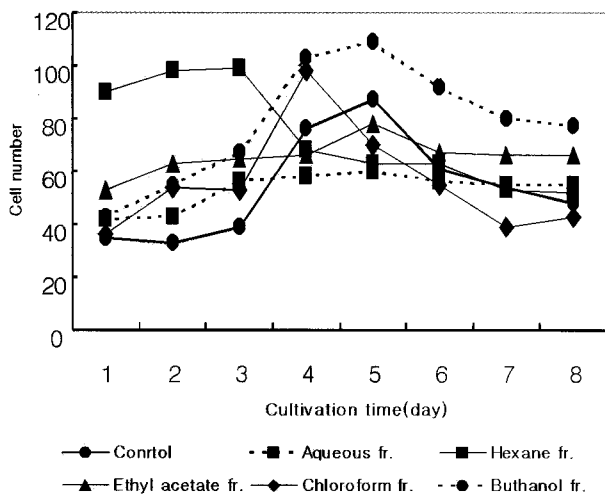


Fig. 2. The cell growth of human T(Jurkat) cell line of each fraction (0.5mg/ml) from Korean *Viscum sp.* using hemocytometer (2500 μm^2)

control에 대하여 hexane fr.에서 2.5배 이상의 생육촉진을 보였으며, butanol fr.에서는 배양 8일동안 전체적으로 1.5배의 세포 생육촉진을 보였다.

Fig. 3는 T 세포에 대하여 상수리나무 겨우살이 분획물들의 생육촉진을 나타낸 것으로, control에 대하여 ethyl acetate fr.과 chloroform fr.에서 배양 8일 동안 전체적으로 2배 이상의 세포 생육촉진을 보였다. 특히 배양 4일째 ethyl acetate fr.에서 약 2.3배의 생육촉진을 보이는 것으로 나타났다.

Table 7은 B 와 T 세포에 대하여 3종의 한국산 겨우

살이 분획물들의 세포 생육촉진을 나타낸 것이다. B 세포에 대하여 밤나무 겨우살이 hexane fr., 자작나무 겨우살이 ethyl acetate fr., 버드나무 겨우살이 hexane fr. chloroform fr. ethyl acetate fr.은 배양 4일에서 5일 사이 control에 비하여 약 1.5배 이상의 세포 생육촉진을 보였다. T 세포에 대하여 밤나무 겨우살이 chloroform fr. ethyl acetate fr., 자작나무 겨우살이 hexane fr. chloroform fr. ethyl acetate fr., 버드나무 겨우살이 hexane fr. chloroform fr. ethyl acetate fr.은 배양 3일에서 5일 사이 control에 비하여 약 1.5배 이상의 세포 생육촉진을 보이는 것으로 나타났다.

적 요

기주목(상수리나무, 밤나무, 자작나무, 버드나무)별 겨우살이 ethanol 추출물의 5가지 분획물(hexane fr., chloroform fr., ethyl acetate fr., butanol fr., aqueous fr.)을 이용하여 *in vitro*에서 사람 면역세포주에 대한 생육활성, 사람 정상 세포주에 대한 세포독성, 사람의 각종 암세포주에 대한 생육 저해능을 조사하였다. 4종의 한국산 겨우살이 분획물들의 정상세포에 대한 세포독성은 밤나무 겨우살이 chloroform fr.(28%)을 제외한 모든 겨우살이 분획물 0.5mg/ml이하의 농도로 투여시 정상세포에 대한 세포독성이 20%이하로 나타났다. 또한 암세포 생육 저해능의 경우, 폐암세포주 A549와 위암세포주 AGS에 대하여 상수리나무, 밤나무, 버드나무 겨우살이 분획물에서 80%이상의 생육억제 효과를 보였다.

Human B 세포주와 T 세포주에 대한 생육촉진 실험에서, B 세포주에 대하여 상수리나무 겨우살이 hexane fr. butanol fr., 밤나무 겨우살이 hexane fr., 자작나무 겨우살이 ethyl acetate fr., 버드나무 겨우살이 hexane fr. chloroform fr. ethyl acetate fr.은 배양 3일에서 5일 사이 control에 비하여 약 1.5~3배의 세포 생육촉진을 보였다. T 세포주에 대하여 상수리나무 겨우살이 chloroform fr. ethyl acetate fr., 밤나무 겨우살이 chloroform fr. ethyl acetate fr., 자작나무 겨우살이 hexane fr. chloroform fr. ethyl acetate fr., 버드나무 겨우살이 hexane fr. chloroform fr. ethyl acetate fr.은 배양 3일에서 5일 사이 control에 비하여 약 1.5~2.3배의 세포 생육촉진을 보였다.

한국산 겨우살이 분획물들은 정상세포에 대한 독성이 약하고, 면역세포의 생육을 촉진하며, 암세포 생육을 저해하는 효과가 있는 결과로부터 겨우살이는 신체의 질병에 대한 효과가 기대되며, 앞으로 보다 상세한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Table. 7. The cell growth of human B and T cell line of the each fraction from Korean *Viscum* sp.

Cells	Samples	Cultivation time(day)								
		1	2	3	4	5	6	7	8	
B cell	control	35 *	33	39	76	87	61	54	48	
	C.c	Hexane	53	90	119	137	90	54	51	50
		Chlorform	60	63	68	80	97	75	60	54
		Ethyl acetate	48	78	84	89	106	86	70	53
		Butanol	40	50	51	60	75	74	68	65
		Aqueous	32	43	51	68	63	62	60	56
		B.p	Hexane	54	81	94	103	80	78	78
	Chlorform		63	90	94	81	80	78	78	75
	Ethyl acetate		98	93	101	134	112	89	87	90
	Butanol		47	55	68	90	93	88	87	90
	Aqueous		55	60	66	75	80	63	53	54
	S.k		Hexane	64	73	94	116	85	79	51
		Chlorform	36	55	67	126	128	100	89	76
		Ethyl acetate	48	52	74	120	100	75	73	72
		Butanol	41	51	57	94	110	108	105	90
		Aqueous	57	53	80	85	65	61	63	67
		T cell	control	75	84	120	118	142	135	130
	C.c		Hexane	126	130	142	181	175	163	156
Chlorform			115	127	140	210	218	195	200	183
Ethyl acetate			130	170	220	250	248	175	164	148
Butanol			68	102	141	152	182	163	150	150
Aqueous			89	102	132	150	141	127	100	99
B.p			Hexane	175	203	215	211	205	190	183
	Chlorform		180	175	180	209	220	190	174	154
	Ethyl acetate		178	236	240	247	241	228	176	165
	Butanol		82	143	140	151	156	144	127	77
	Aqueous		98	110	161	145	130	128	110	93
	S.k		Hexane	160	169	229	207	181	160	150
Chlorform			137	139	145	210	210	160	140	120
Ethyl acetate			102	123	229	230	151	130	120	110
Butanol			140	157	171	134	136	130	124	105
Aqueous			75	89	95	100	100	91	93	90

C.c : Korean *Viscum* sp. (in *Castanea crenata*)

B.p : Korean *Viscum* sp. (in *Betula platyphylla*)

S.k : Korean *Viscum* sp. (in *Salix koreensis*)

*cells/2500 μ m²

Sample concentration : Human B cell line (0.25mg/ml), Human T cell line (0.5mg/ml)

사 사

본 연구는 과기부의 지역개발용역사업 강원도 농산자원의 고부가가치 창출을 위한 핵심기술개발, 과제번호 0101029-1-1(2001213))의 지원으로 수행된 것으로 이에 심심한 사의를 표합니다.

LITERATURE CITED

- Becker H (1986) Botany of European mistletoe (*Viscum album* L.). *Oncology* 43, suppl, 1 pp. 2-7.
- Han BH, Park MH, Choi JY, Park JS, Yoon ES, Bae KU (1998) Effect of Ginsenosides from *Panax Ginseng* on TNF- α Production and T Cell Proliferation. *Yakhak*

- Hoeji, 42(3), 29, 6~301
- Dool R, Peto R (1981) The causes of cancer : Quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today., *J. Natl. Cancer Inst.*, 66(6), 1192.
- Doyle A, Griffiths JB, Newell DG (1993) Cell & Tissue culture : Laboratory procedures., Wiley.
- Franz H (1986) Request for an impartial discussion of the so-called mistletoe therapy, *Oncology*, 43, suppl. 1, P1.
- Franz H., Ziska P, Kindt A (1982) The toxic A-chain of mistletoe lectin 1 : Isolation and its effect on cell-free protein synthesis, *Acta biol. med. germ.* Band 41, K9-K16.
- Hajto T, Hostanska K, Gabius HS (1989) Modulatory potency of the β -galactoside-specific lectin from mistletoe extract (Isador) on the host defense system in vitro in rabbits and patients, *Cancer Res.* 49, 4803-4808.
- Hajto T, Gabius HJ (1990) Increased secretion of tumor necrosis factor A, Interlukin 1, and Interlukin 6 by human mononuclear cells exposed to β -galactoside-specific lectin from clinically applied mistletoe extract, *Cancer Res.* 50 : 3322-3326.
- Jassen O, Scheffler A, and Kabelitz D (1993) *In vitro* effects and mistletoe extracts and mistletoe lectins-cytotoxicity towards tumor cells due to the induction of programmed cell death(apoptosis). *Drug Res.* 43(11) 1221-1227.
- Kanner L (1939) Mistletoe, magic and medicine, *Bull. Hist. Med.*, 7, 875-936,
- Lee RT, Gabius HJ, Lee YC (1992) Ligand binding characteristics of that major mistletoe lectin, *Am. Soc. for Biochem. and Molc. Biol.* 267(33) 23722-23727.
- Millan I, & Mcmichael JC (1978) Glycoproteins of natural origin with an affinity for hepatitis B surface antigen, *Infect. Immunol.* 21, 879.
- Evans MR , Preece AW (1973) *Viscum album* - A possible treatment for cancer?. *Bristol Med, Chir J.* 88, 17-20
- Peifler R, Pfueller K, Cockeritz W, Pfuller U (1993) Improved procedures for isolation of mistletoe lectins and their subunits: Lectin pattern of the European mistletoe, *Biology, Clinical Biochemistry.* 9, 114-151.
- Salzer G (1986) Pleura Carcinosis-Cytomorphological findings with the mistletoe preparation and other pharmaceuticals, *Oncology* 43 . suppl. 1, 66-70.
- Ham SS, Kang ST, Choi KP, Park WB, Lee DS (1998) Angimutagenic effect of Korean mistletoe extracts, *J.Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 27(2), 359-365.
- Tasneem A, Khwaja, Cecilia B, Dias, Stephanie Pentecost (1986) Recent studies on the anticancer activities of mistletoe(*Viscum album*) and its alkaloids, *Oncology*, 43, suppl. 1, 42-50.
- Vester VF, Schweiger A (1968) Die Hemmwirkung basischer proteine aus *Viscum album* auf RNA-Synthese in Yoshida-Ascites : *Hoppe-Seyler's Z.Physiol. Chem. Bd.* 349, S. 865-866.
- Park WB, Kim HS (1994) Changes of lectin form *viscum coloratum* by fermentation with *Lactobacillus plantarum* - Isolation and purification, *Yakhak Hoeji.* 38(6) 687-695.
- Park WB, Kim HS (1994) Isolation and characterization of lectin from *Viscum coloratum*, *Yakhak Hoeji.* 38(4) 418-424.
- Park WB, Kim HS (1995) Changes of lectin form *viscum coloratum* by fermentation with *Lactobacillus plantarum* - Effects of pH, temperature, sugar specificity and lymphocyte stimulating activity, *Yakhak Hoeji.* 39(1) 24-30.
- Park WB, Han SK, Han KH (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.
- Park WB, Ju YJ, Han SK (1998) Isolation and characterization of β -galactoside specific lectin from Korean mistletoe(*Viscum album*, var. *coloratum*) with Sepharose 4B and changes of conformation, *Arch. Pharm. Res.* 21(4) 429-435.
- Yoon TK, Yoo YC, Choi OB, Do MS, Kang TB, Lee SW (1995) Inhibitory effect of Korean mistletoe (*Viscum album coloratum*) extract on tumor angiogenesis and metastasis of hematogenous and nonhematogenous tumor cells in mice, *Cancer Lett.* 97, 83-91
- Yoon TK, Yoo YC, Hong EK, Cho YH (1994) Effects of Korean mistletoe extracts on the induction of IL-1 and TNF- α from macrophages, *Kor. J. Pharmacogn.* 25, 132-139.
- Yoon TK, Yoo YC, Kang TB, Do MS, Azuma I, K (1997) Immunological activities of Korean mistletoe extract(*Viscum album coloratum*; KM-110), *Korean J. Immunol.* 19, 571-581.
- 박원봉 (1998) 한국산 겨우살이의 채취시기에 따른 고분자성분 및 생리활성의 변화, 과학기술부.
- 박진수 (1994) 한국산 겨우살이(*Viscum album C.*)추출물의 동물체 내에서의 암세포 증식에 미치는 영향. 건국대학교 석사 학위논문.
- 윤택준, 유영춘, 홍은경, 조영호, 이석원, Azuma I, 유보림, 김종배 (1994) 마우스 Macrophage IL-1 및 TNF- α 의 분비유도에 있어서 한국산 겨우살이 추출물이 미치는 영향. 생화학회지. 25(2) 132-139.
- 이우철 (1996) 원색한국기준식물도감. 71. 아카데미서적. 서울