

생강과 톳 추출물이 마우스의 대식 세포에서 Nitric Oxide(NO) 생성에 미치는 영향

류혜숙* · † 김현숙**

*상지대학교 이공대학 식품영양학과, **숙명여자대학교 생활과학대학 식품영양학과

Effect of *Zingiber officinale* and *Hizikia fusiforme* Water Extracts on NO Production in Macrophage of Mice

Hye-Sook Ryu* and †Hyun-Sook Kim**

*Department of Food and Nutrition, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

**Major in Food & Nutrition, Sookmyung Women's University

Abstract

Zingiber officinale and *Hizikia fusiforme*(sea weed fusiforme) have long been used for food sources in Korea. The present study was performed to investigate the *ex vivo* effect of *Zingiber officinale* and *Hizikia fusiforme* on NO production in macrophage of mice. Seven to eight week old mice(Balb/c) were fed chew diet *ad libitum* and water extract of *Zingiber officinale* and *Hizikia fusiforme* was administrated orally at two different concentrations (50 and 500 mg/kg B.W.). every other day for two or four weeks NO(nitric oxide) production by activated macrophage was assessed by measuring nitrite, the stable NO metabolite, using Griess reaction assay. NO production were significantly enhanced in *Zingiber officinale* group at 500 mg/kg B.W. and in *Hizikia fusiforme* group at 50 mg/kg B.W. compared to the corresponding control groups.

In conclusion, this study may suggest that *Zingiber officinale* and *Hizikia fusiforme*(sea weed fusiforme) extracts enhance the immune function by regulating NO production in macrophages of mice.

Key words : NO production, immune function, *ex vivo*, *Zingiber officinale*, *Hizikia fusiforme*

서론

21세기 생명 공학의 발달과 건강에 대한 욕구 증대로 식품에 대한 관심이 급속히 강조되고 있는 반면, 생활의 불균형으로 인한 만성 질환이 증가하여 국민보건 및 국가의 경제적 부담이 가중되고 있는 실정이다^{1,2}. 이러한 사회적 요구에 따라 식품의 생리 활성 물질 확인 및 식품의 면역 활성 효과에 관심이 모아지고 있다^{3,4}.

생리 활성에 대한 연구는 우리가 손쉽게 섭취하는 향신료에서부터 해양 생물에 이르기까지 다양한 형태로

진행되고 있다. 해양 생물에 대한 많은 연구들을 보면 해조류의 추출물이 항돌연변이 활성에 영향을 미친다는 보고가 많이 있다^{5,6}. 톳에 대한 선행 연구로는 생체내 항고지혈증⁷, 항균성⁸, 항고콜레스테롤 및 항산화 효과에 대한 연구가 이루어지고 있다^{9,10}. 또 우리나라의 김치 재료로 보편적으로 이용되고 있는 생강에 대한 생리 활성 연구로 차멀미 구역질에 대한 생강의 기전이 연구된 바 있으며¹¹, 새로운 항 구토제로서의 생강에 대해 metoclopramide와 비교하여 연구한바 특히 부인과 수술 후의 구토 및 오심에 효과¹²가 있음이 밝혀졌다.

† Corresponding author : Hyun-Sook Kim, Major in Food & Nutrition, Sookmyung Women's University, Chungphadong 2-ka, Yongsan-ku, Seoul 140-742, Korea.

Tel : +82-2-710-9469, Fax : +82-2-707-0195, E-mail : rhs7420@hanmail.net

또 생강의 항산화 효과¹³⁾를 검정한 연구가 보고되어 있으며, 생강의 면역 활성화에 대한 연구도 보고되어 있다^{14,15)}. Nitric oxide(NO)는 면역계에서 종양세포나 세포내 기생물에 대한 방어 작용을 하는 중요한 신호 전달 물질이며, radical molecule로서 nitric oxide synthase(NOS)의 작용에 의해 L-arginine이 L-citrulline으로 변화되는 과정에서 생성된 NO는 대부분의 조직세포에 영향을 미쳐 순환기계에서는 혈관 이완 물질로 중추신경계에서는 신경 전달 물질로 면역계에서는 방어 물질로 알려져 있다¹⁶⁾. 탐식 작용을 일으킨 대식세포는 NOS를 유도하여 NO를 생산한다¹⁷⁾. 세포질내에 항상 미량으로 존재하는 constitutive form(eNOS)과 면역학적 변화에 의해 유도되는 inducible form(iNOS)의 두 가지 isoform이 존재한다. 이 중 iNOS는 Ca²⁺/calmodulin 비의존적이며 혈관 내피세포, 근육세포를 포함한 다양한 조직에서 면역학적 변화로 인해 유도되는데 세균류에 의해 분비되는 내독소인 lipopolysaccharide(LPS)나 체내에서 면역 반응의 매개체인 사이토카인 특히 IL-1, TNF- α , IFN- γ 등에 의해 유도된다^{18,19)}. 대식세포의 NOS는 항상 존재하는 것이 아니라 IFN- γ , TNF- α 와 같은 여러 가지 사이토카인과 LPS 등에 의해 NOS 유전자의 발현이 유도되기 때문에 iNOS라고 하며 L-arginine으로부터 다량의 NO를 생산하게 된다²⁰⁾. 일반적으로 iNOS의 발현은 면역 반응의 활성화 시 유발되며 이렇게 생체에 유리된 NO는 일반적으로 이롭게 작용하지만 과다 생성 시 prostaglandin 등의 생합성을 촉진하여 염증반응을 심화시키며^{21,22)}, 폐혈증 shock를 일으키는 등 해롭게 작용하기도 한다²³⁾. 이러한 연구를 배경으로 본 연구에서는 생체 외(ex vivo) 실험을 통해서 생강과 톳 물 추출물을 경구 투여함으로써 생강과 톳 물 추출물의 대식세포 배양액내의 NO 생성량을 측정하여 암세포나 바이러스 감염시 활성화된 대식세포로부터 분비되는 세포 방어 또는 독성 물질인 NO의 생성 정도를 통해 면역세포의 생체 방어능을 예측하여, 면역능에 미치는 영향을 연구하고자 한다.

실험재료 및 방법

1. 시료 추출 및 실험 동물

본 연구에 사용된 생강과 톳은 2001년 12월 (주)제일동건에서 구입하였다. 구입한 톳은 깨끗한 물로 세척한 후 동결 건조하여 실험에 사용하였다. 시료 추출은 동결 건조시킨 시료를 증류수로 환류 냉각시키면서 80°C 수욕상에서 3시간씩 3회 반복 추출한 후 감압 농축하여 물 추출물을 얻었다.

본 연구에 사용된 동물은 7~8주령된 암컷 Balb/c mouse로 (주)대한실험동물센터로부터 분양 받아 고형 사료(주식회사 오리엔트)와 물을 자유로이 공급하면서 7~8일 정도 실험 동물실에서 적응시킨 후 체중이 15 g 내외인 마우스를 실험에 사용하였다. 실험 동물실 온도는 22±2°C, 습도는 40~60 %로 유지하였고, 명암주기(Light and dark cycle)는 12시간 단위로 조절하였다. 마우스를 임의 배치법에 의해 대조군과 투여군으로 나누어 실시하였다. 생강과 톳 물 추출물을 각각 50 mg/kg B.W./day와 500 mg/kg B.W./day의 농도가 되도록 하였으며 2주와 4주간 격일로 경구 투여하였고, 대조군에는 생리 식염수를 동일 농도로 투여하였다.

2. 복강 대식세포의 분리 및 배양

마우스의 복강 내에 4 % thioglycolate(Sigma) 2 ml를 주사하여 3일간 복강 내에 대식세포가 모이게 한 후, 경추 탈골법에 의해 희생시킨다. 마우스 복부의 표피를 절개하여 벗긴 다음, RPMI 1640 용액으로 복강을 가볍게 마사지한 후 세척액을 취하여 멸균 시험관에 수집하였다. 수집된 세척액을 4°C, 3,000 rpm에서 10분간 원심 침전시켜 cell pellet을 얻었다. Cell pellet을 Tris-buffered ammonium chloride(0.87 % NH₄Cl, pH 7.2)와 증류수에 현탁시켜 5분간 처리하여 적혈구를 제거하고 RPMI 1640 용액으로 2회 원심 세척하였다. 모아진 대식세포를 10%의 불활성화된 FBS를 함유한 RPMI 1640 용액에 분산시켜, trypan blue solution으로 염색한 후 hemocytometer를 이용하여 그 세포수를 측정하였다. 세포수를 1×10⁶ cell/ml의 농도로 희석하여 24-well plate에 분주 후 37°C, 5 % CO₂ incubator(Sanyo)에서 배양하였다. 2시간 후 각 well의 상층액을 건어 비부착 세포(non-adherent cells)는 제거하고 부착 세포(adherent cells)만을 사용하였다.

3. 복강 대식세포의 NO(Nitric Oxide) 생성량 측정

각 군별로 생강과 톳 추출물을 경구 투여한 마우스의 대식세포 배양 액내의 NO 생성량을 측정하였다. 대식세포에 의해 만들어지는 NO는 6~8초 존재하며 그 후 자발적으로 산화되어 NO₂⁻와 NO₃⁻ 상태로 전환되어 측정된다. 따라서 생성되는 RNI(reactive nitrogen intermediate)양은 NO₃⁻의 환원 요소를 이용하여 NO₂⁻로 전환시켜야 정확하지만 보통은 NO₂⁻가 대부분이기 때문에 이를 발색시켜 Ding²⁴⁾의 방법에 따라 간접적으로 정량하였다. 100 μ l의 대식세포 배양 상층액과 동량의 Griss reagent(1% sulfanilamide, 2.5% H₃PO₄, 0.1% naphthylene diamine dihydrochloride)를 섞고 실온에서 10분간 반응시킨 후, ELISA reader를 이용하여 540 nm

에서 흡광도를 측정하였다. Sodium nitrite 표준용액을 이용하여 구해진 표준 검량 곡선에 의해 nitrite 양을 정량하였다.

3. 통계 분석

모든 실험 결과의 자료는 SAS(Statistic Analysis System) 통계 프로그램을 이용하여 평균 및 표준 편차를 구하였다. 각 군간의 평균치의 차이는 분산 분석(Analysis of Variance, ANOVA) 및 Duncan's multiple range test를 사용하여 $\alpha = 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 생강과 톳 물 추출물의 경구투여가 NO 생성에 미치는 영향

생강 열수 추출물 투여에 의한 복강 대식세포의 NO 생성량을 측정한 결과는 Table 1과 Table 2에 나타내었다. NO_2^- 의 농도가 NO의 생성을 반영하므로 NaNO_2 를 이용하여 작성한 표준 곡선으로부터 NO_2^- 농도를 측정하였다.

LPS를 첨가하지 않은 생강 열수 추출물 2주 투여군의 경우 50 mg/kg B.W.와 500 mg/kg B.W. 모두에서 대조군에 비해 NO 생성량에 변화를 보이지 않았다. 대식세포의 NO 생산을 유도하는 것으로 알려진 LPS 첨가시에는 2주 투여시도 50 mg/kg B.W.와 500 mg/kg B.W.의 농도군에서 84.27±12.45 μm 와 72.50±6.88 μm 로 대조군에 비해 유의적으로 NO 생성량이 증가하였고 특히 50 mg/kg B.W. 농도군에서 가장 많은 NO를 생성하였다. 이와 같이 미토젠인 LPS 처리에 의해 다른 변화를 보이는 것은 외부로부터 자극이 없는 경우 생강 추출물의 투여에 큰 변화를 보이지 않다가 외부 항원으로부터 방어 작용을 하는데 도움이 될 수 있는 가능성을 보여준다. 4주 투여시에는 500 mg/kg B.W. 농도에서 유의성 있게 증가하였다. 톳 열수 추출물을 경구 투여한 마우스 복강 대식세포의 NO 생성량을 측정한 결과는 Table 3과 Table 4에 나타내었다. 2주, 4주 모두 톳 물 추출물을 투여하고 LPS를 첨가하지 않은 경우 대조군에 비해 유의적으로 낮은 NO 생성량을 보였다. 대식세포의 NO 생산을 유도하는 것으로 알려진 LPS 첨가시에는 2주 투여시에 50 mg/kg B.W.와 500 mg/kg B.W.의 농도군에서 266.48±46.87 μm 와 240.38±13.20 μm 으로 대조군에 비해 유의적으로 NO 생성량이 증가하였고 특히 50 mg/kg B.W. 농도군에서 가장 높게 증가하였다. 4주 투여시에도 50 mg/kg B.W.와 500 mg/kg B.W. 농도에서 모두 유의성 있게 증가하였다. 이상의 결과 생강 물

추출물 투여시 500 mg/kg B.W. 농도에서 유의성 있게 증가하였다. 톳 물 추출물 투여시에도 LPS 첨가한 2주 투여군의 경우 50 mg/kg B.W.에서 NO 활성을 나타내었고, 4주의 경우 50 mg/kg B.W.와 500 mg/kg B.W. 두 농도 모두에서 유의적으로 높은 NO 활성을 나타내었다. 이상의 실험 결과는 농도에 따라 다소 차이는 보이나 경구 투여한 생강과 톳 물 추출물이 복강 대식세포의 활성화에 작용하여 사이토카인 생성을 활성화시키고²⁵⁾ 이로 인해 NO 생성 증가에도 영향을 미치는 것으로 사료된다. NO는 활성화된 대식세포에 의해 암세포를 파괴하는 주요 효력인자임이 밝혀졌고, 비특이적 면역 반응이나 대식세포에 의해 암세포 사멸 및 성장 저해 등에 NO와 관련이 있음이 밝혀져 있다²⁶⁾. 최근 시간대

Table 1. NO(nitric oxide) production by activated peritoneal macrophages of mice orally administered with different levels of *Zingiber officinale* Roscoe water extracts with or without mitogen treatment for 2 weeks

Conc.(mg/kg B.W.)	Nitrite(μm)	
	Without mitogen	LPS treated
0	0.00± 1.17 ^{a1)2)}	17.5 ± 9.68 ^b
50	0.38± 3.59 ^a	84.27±12.45 ^a
500	1.27±10.9 ^a	72.50±6.88 ^a

¹⁾ Values are mean±S.D. of triplicates.

²⁾ Means with different letters(a, b, c) are significantly different from each other at $\alpha=0.05$ as determined by Duncan's multiple range test(a>b>c).

Table 2. NO(nitric oxide) production by activated peritoneal macrophages of mice orally administered with different levels of *Zingiber officinale* Roscoe water extracts with or without mitogen treatment for 4 weeks

Conc.(mg/kg B.W.)	Nitrite(μm)	
	Without mitogen	LPS treated
0	0.00± 0.56 ^a	26.66±27.75 ^b
50	23.00±21.70 ^a	91.29±23.30 ^{ab}
500	0.00± 0.14 ^a	120.71±15.23 ^a

¹⁾ Values are mean±S.D. of triplicates.

²⁾ Means with different letters(a, b, c) are significantly different from each other at $\alpha=0.05$ as determined by Duncan's multiple range test(a>b>c).

Table 3. NO(nitric oxide) production by activated peritoneal macrophages of mice orally administered with different levels of *Hizikia fusiforme* water extracts with or without mitogen treatment for 2weeks

2week Conc.(mg/kg b.w.)	Nitrite(μ m)	
	Without mitogen	LPS treated
0(Control)	2.486 \pm 0.12 ^{a 1)2)}	181.01 \pm 31.50 ^b
50	-2.22 \pm 0.15 ^b	266.48 \pm 46.87 ^a
500	-2.68 \pm 0.28 ^c	240.38 \pm 13.20 ^{ab}

¹⁾ Values are mean \pm S.D. of triplicates.

²⁾ Means with different letters(a, b, c) are significantly different from each other at $\alpha=0.05$ as determined by Duncan's multiple range test(a>b>c).

Table 4. NO(nitric oxide) production by activated peritoneal macrophages of mice orally administered with different levels of *Hizikia fusiforme* water extracts with or without mitogen treatment for 4weeks

4week Conc.(mg/kg b.w.)	Nitrite(μ m)	
	Without mitogen	LPS treated
0(Control)	42.30 \pm 1.91 ^{a 1)2)}	105.99 \pm 3.82 ^b
50	31.73 \pm 1.99 ^c	153.98 \pm 9.81 ^a
500	36.57 \pm 2.48 ^b	143.15 \pm 8.39 ^a

¹⁾ Values are mean \pm S.D. of triplicates.

²⁾ Means with different letters(a, b, c) are significantly different from each other at $\alpha=0.05$ as determined by Duncan's multiple range test(a>b>c).

별로 본 iNOS 발현 연구에 의하면²⁷⁾ 백작약, 참취, 어성초의 경우 이들 시료가 LPS를 처리하지 않은 경우 미미한 사이토카인 생성능을 보이다가 LPS를 처리한 후 초기 반응에서 IL-1 β , IL-6, TNF- α 사이토카인 분비량이 상승한 것으로 나타났으며, 그 중에서도 TNF- α 는 암세포를 파괴하는 종양괴사2 인자로서 암과 관련된 연구에 자주 이용되는 사이토카인으로, 염증에 의해 유발되는 초기 사이토카인 cascade에 관여하며 NO 생성을 유도하는 것으로 알려져 있다.

요약 및 결론

본 연구에서는 천연 자원 식용 해조류인 톳과 우리

나라 전통적인 향신료로 이용되는 생강의 물 추출물 경구투여가 마우스 면역능에 미치는 영향에 관하여 NO 활성을 통해 살펴보고자 하였다. 생체 외(ex vivo) 실험은 다음과 같다. 생강 물 추출물과 톳의 물 추출물을 2주와 4주간 격일로 체중 kg당 50 mg/kg B.W.와 500 mg/kg B.W.의 두 농도로 각각 마우스에 경구 투여한 후 NO 생성량을 측정하였다. 그 결과 생강의 물 추출물 투여시 50 mg/kg B.W.와 500 mg/kg B.W. 농도에서 2주 4주 모두 NO 활성을 보였으며, 특히 LPS를 처리한 500 mg/kg B.W.에서 유의적으로 높은 NO 생성량을 나타내었다. 톳 물 추출물 투여시에서도 2주 4주 모두 50 mg/kg B.W.와 500 mg/kg B.W.에서 NO 활성을 나타내었으며, 톳의 경우 50 mg/kg B.W.농도에서 더 높은 생성량을 나타내어 이는 시료에 따라 농도에 따른 생성량의 차이가 있을 수 있음을 보여주는 결과라 할 수 있다. 이러한 연구 결과에 따라 경구 투여한 생강과 톳의 물 추출물이 복강 대식세포의 활성화에 작용하여 사이토카인 생성을 활성화시키고, 이로 인해 NO 생성 증가에도 영향을 미치는 것으로 사료되며, 또한 이들 생성량이 조절됨으로써 면역 기능을 높이는 역할을 할 가능성이 있는 것으로 사료된다. 따라서 이러한 연구 결과를 토대로 NO 생성량이 면역능에 미치는 영향에 대한 기초 자료가 될 수 있기를 기대한다.

참고문헌

1. Challener, C. Functional foods market offers promise and risk. *Chemical Market Reporter* 257:16, 2000
2. Mikaela, B and Katrina, N. Identification of key success factors of functional dairy foods product development. *Trends in Food Science & Technology* 13: 372-379, 2002
3. Itoh, H, Noda, H and Ito, H. Immunological analysis of inhibition of lung metastasis by fucoidan (GIV-A) prepared from brown seaweed *Sargassum thunbergii*. *Anticancer Res.* 15(5B):1937-1947, 1995
4. Konishi, F, Mitsuyama, M, Okuda, Kuniaki, T, Hasegawa, T and Nomoto, K. Protective effect of an acidic glycoprotein obtained from culture of *Chlorella vulgaris* against myelosuppression by 5-fluorouracil. *Cancer Immunol. Immunother.* 42:268-274. 1996
5. Yasuji, O and Kiyoka, HO. Identification of antimutagenic activities in the extract of an edible brown algae *Hizikia fusiforme* by ume gene expression system in *Salmonella typhimurim*. *J. Sci. Food Agric.* 66:

- 103-109, 1994
6. Okai, Y, Higashi-Okai, K and Nakamura, S. Identification of heterogenous antimutagenic activities in the extract of edible brown seaweeds, *Laminaria japonica* (Makombu) and *Undaria pinnatifida* (Wakame) by the *umu* gene expression system in *Salmonella typhimurium* (TA 1535/pSK1002). *Mutation Research* 303:63-70, 1993
 7. Shan, BE, Yoshida, Y, Kuroda, E and Yamashira, U. Immunomodulating activity of seaweed extract on human lymphocytes *in vitro*. *Int. J. Immunopharmacol.* 21(1):59-70, 1999
 8. Abdussalam, S. Drugs from seaweeds. *Med. Hypotheses* 32:33-35. 1990
 9. Hurch, FC, Meade, JB, Treanor, RE and Whinna, HC. Antithrombotic activity of fucoidin with heparin cofactor II, antithrombin III and thrombin. *J. Biol. Chem.* 6:361-375, 1989
 10. Kim, KI, Seo, HD, Lee, HS, Jo, HY and Yang, HC. Studies on the blood anticoagulant polysaccharide isolated from hot water extracts on *Hizikia fusiforme*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 27: 1204-1210, 1998
 11. Holtmann, S, Clarke, H, Scherer, H and Hohn, H. The antimotion sickness mechanism of ginger. *Acta Otolaryngo.* 108:168-174, 1989
 12. Bone, ME, Wilkinson, D, Young, J, McNeil, J and Charlton, S. Ginger root - a new antiemetic, The effect of ginger root on postoperative nausea and vomiting after major gynecological surgery. *Anaesthesia* 45: 669-671, 1990
 13. Thomson, M, Al-Qattan, K and Al-Sawan, M. The use of ginger(*Zingiber officinale* Roscoe) as a potential anti-inflammatory and antithrombotic agent. *Elsevier Science Ltd.* 67(6):475-478, 2002
 14. Ryu, HS and Kim, HS. Effect of *Zingiber officinale* Roscoe extracts on mice immune cell activation. *The Korean Journal of Nutrition* 37(1):23-30, 2004
 15. ZR, N, Prangdimurt, E and Tejasari. Antioxidant and immunoenhancement activities of ginger(*Zingiber officinale* Roscoe) extracts and compounds in *In Vitro* and *In Vivo* mouse and human system. *Nutraceuticals & Food* 8:96-104, 2003
 16. Wade, MH. Detecting calcium response in cultured cells using the visible wavelength calcium probe, Fluo-3. *Application Note Number E-2.* 1990
 17. Moncade, S and Higgs, A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N. Engl. J. Med.* 329:2002-2012, 1993
 18. Tetsuka, T, Daphna-Iken, D, Srivastava, SK, Baier, LD, DuMaine, J and Morrison, AR. Cross-talk between cyclooxygenase and nitric oxide pathways prostaglandin E₂ negatively modulates induction of nitric oxide synthase by interleukin I. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91:168-172, 1994
 19. Vane, JR, Mitchell, JA, Appleton, I, Tomlinson, A, Bailey, DB, Croxtal, J and Willoughb, DA. Inducible isoforms of cyclooxygenase and nitric oxide synthase in inflammation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91: 2046-2050, 1994
 20. Hibbs, JB, Tanitor, RR, Vavrin, I and Rachlin, EM. Nitric oxide: A cytotoxic activated macrophage effector molecule. *Biochem Biophys Res Commun.* 157:87-92, 1998
 21. Barnes, PJ and Liew, FY. Nitric oxide and asthmatic inflammation. *Immunology Today* 16:128-130, 1995
 22. McCartney-Francis, N, Allen, JB, Mizel, DE, Albina, JE, Xie QW, Nathan CF and Wahl, SM. Suppression of arthritis by an inhibitor of nitric oxide synthase. *J. Exp. Med.* 178:749-754, 1993
 23. Blownstein, CJ, Dinerman, JL and Snyder, SH. Nitric oxide; a physiologic messenger. *Ann. Int. Med.* 120: 227-237, 1994
 24. Ding, AH, Nathan, CF and Stuehr, DJ. Release of reactive nitrogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages. Comparison of activating cytokines and evidence for independent production. *J. Immunol.* 141:2407, 1998
 25. Ryu, HS, Park, SC and Kim, HS. Enhancing effect of *Zingiber officinale* Roscoe extracts on mouse spleen and macrophage cells activation. *The Korean Journal of Nutrition* 37(9):780-785, 2004
 26. Duerksen-Hughes, PJ, Day, D, Iaster, SM, Zachariades, NA, Aquino, L and Gooding, LR. Both tumor necrosis factor and nitric oxide participate in lysis of simian virus 40 transformed cells by activated macrophages. *J. Immunol.* 149:114-122, 1992
 27. Kim, J. Enhancing effect of *Paeonia japonica*, *Houttuynia cordata*, and *Aster scaber* extracts on the immunoreactivity *in vivo* in mice. Ph.D. Dissertation Sookmyung Women's university, 2003

(2006년 8월 7일 접수; 2006년 9월 25일 채택)