

2주 동안의 울무 추출물 경구 투여가 복강대식세포의 사이토카인 IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-10 생성에 미치는 영향

†류 혜 숙

상지대학교 보건과학대학 식품영양학과

Effect of *Job's Tear(Yul-Moo)* Extracts on Mouse Oral Administration IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-10 Cytokine Production by Peritoneal Macrophage for Two Weeks

†Hye-Sook Ryu

Dept. of Food and Nutrition, College of Health Sciences, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

Abstract

The present study examined the *ex vivo* effect of *Job's tear* on immune function. Seven to eight week old mice(Balb/c) were fed a chow diet ad libitum two different concentrations (50 and 500 mg/kg BW) of water extract of *Job's tear* were orally administ every other day for two weeks. The results indicated that macrophage activation had occurred in the mice receiving 50 mg/kg B. W. of *Job's tear* water extract. Overall, using a mouse model, this study demonstrated that *Job's tear* extract may enhance immune function by regulating the IL-1 β , IL-6, TNF- α and IL-10 cytokine production capacity of activated macrophages in mice. This study may suggest that supplementation of *Job's tear* water extracts may enhance the immune function by regulating the enhancing the cytokine production by activated macrophage *ex vivo*.

Key words: two weeks, *Job's Tear*, cytokine, IL-10, immune, *ex vivo*.

서 론

최근 천연식품을 소재로 한 생리조절 작용을 밝히려는 노력이 여러 각도에서 이루어지고 있다^{1,2)}. 이러한 연구의 일환으로 노화 방지, 면역 증강 효과 등에 대한 연구가 항체 생성 및 항산화 효과와 같은 각종 생리활성을 나타내는 물질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다^{3~5)}. 식품의 면역 활성화에 관한 연구로 메밀, 돌미나리 등이 세포 면역 기능을 강화시켰다는 보고가 있다^{6,7)}. 또, 생강 첨가 된장을 투여한 쥐에서 우수한 종양세포 생성 억제 작용을 가지는 것으로 나타나, 생강의 항암 효과에 대한 연구와 생강 추출물 투여가 마우스 면역세포 활성을 증진시켰다고 보고되기도 하였다⁸⁾. 톳을 이용한 면역세포 증진 효과와 항산화효소 활성 효과에 대한 연구 결과도 보고된 바 있다^{9,10)}. 본 연구에서 이용된 울무는 한국인

들의 전통차로 주로 이용되고 있으며, 호본과의 일년생 초본으로 섬유소가 풍부하고 칼슘, 철분, 비타민 B₁, B₂ 등을 다량 함유하고 있어 영양적으로 우수하고 건강보조식품으로도 적당하다고 알려져 있다^{11,12)}. 울무에 대한 면역 활성화에 대한 연구로는 울무 첨가가 항체 생성을 증진시키는 것으로 알려져 있으며¹³⁾, 면역 증진과 관련한 *in vitro* 실험에 의하면¹⁴⁾ 울무물 추출물 100 μ g/ml 농도에서 사이토카인 IL-1 β , IL-6와 TNF- α 의 생성량이 미토젠 수준으로 증가하여 울무 추출물이 면역 활성화에 효과가 있을 가능성을 제시하였다. 또한, 울무는 항 동맥강화작용^{15,16)}과 항 혈전효과¹⁷⁾, 항산화작용¹⁸⁾이 있는 것으로 밝혀져 있어 기능성 식품 소재로서의 가능성이 기대된다. 따라서 본 연구에서는 면역 증진능을 갖는 천연 식품 소재로서의 울무의 면역세포 활성 효과를 검정하여 울무의 면역 증진 식품으로서의 가능성을 확인하고자 하였다.

† Corresponding author: Hye-Sook Ryu, Dept. of Food and Nutrition, Sangji University, Wonju 220-702, Korea.
Tel: +82-33-738-7641, Fax: +82-33-730-0186, E-mail: rhs7420@hanmail.net

ex vivo 실험으로 울무를 물 추출하여 실험동물에 2주간 직접 투여함으로써 울무가 마우스 생체내에서 사이토카인(IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-10) 생성량에 미치는 영향을 분석하여 면역 활성 효과를 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시료추출 및 실험동물

울무 추출물은 동결 건조된 시료를 증류수 또는 에탄올로 환류 냉각시키면서 80°C 수욕상에서 3시간씩 3회 반복 추출한 후 감압 농축하여 물 추출물을 얻었다. 본 연구에 사용된 동물은 7~8주령된 암컷 Balb/c mouse를 (주)대한실험동물센터로부터 분양 받아 고형 사료(중앙실험동물)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.

2. 시약 및 배지

본 연구에 사용된 배지는 RPMI medium 1640의 GIBCO BRL(Grand Island, NY, USA) 제품을 사용하였고, fetal bovine serum(FBS), lipopolysaccharide(LPS), concanavalin A(ConA), thioglycollate, sodium bicarbonate, ammonium chloride, TRIZMA[®] base, TRIZMA[®] hydrochloride, trypan blue solution(0.4%), DMSO(dimethyl sulfide), 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide(MTT) 등의 시약은 Sigma(St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였다.

3. 울무 추출물의 투여

Ex vivo 실험에서는 울무 물 추출물을 멸균 증류수로 용해시킨 후 적정 농도로 희석하여 사용하였다. 마우스를 임의 배치법에 의해 대조군과 투여군으로 나누었으며, 대조군에는 생리 식염수를, 투여군에는 검액을 각각 50 mg/kg BW/day와 500 mg/kg BW/day씩 2주간 격일로 경구 투여하였다.

4. 복강 대식세포의 분리 및 배양

마우스의 복강 내에 4% thioglycollate(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 증

류수에 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.

5. 마우스 복강 대식세포의 Cytokine(IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-10) 생성량 측정

울무 물 추출물을 경구 투여한 마우스의 복강내 대식세포를 추출하여 배양시킨 다음 배양상층액으로부터 분리되는 사이토카인(IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-10)의 분비량을 각각 측정하였다. 즉, 10%의 불활성화된 FBS를 함유한 RPMI 1640 용액을 1×10⁶ cell/ml의 세포농도가 되도록 분산시켜 24-well plate의 각 well에 1,000 μ l씩 분주하여 37°C, 5% CO₂ incubator(Sanyo)에서 2시간 배양한다. 배지 교환을 위해 상층액을 건고 각 well에 10%의 불활성화된 FBS를 함유한 RPMI 1640 용액을 900 μ l, 대식세포를 활성화시키는 mitogen인 LPS와 배지를 100 μ l 가한 후 37°C, 5% CO₂ incubator(Sanyo)에서 48시간 배양하였다. 배양 상층액을 분리하여 IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-10의 생성량을 ELISA cytokine kit(R&D system, USA)를 이용하여 측정하였다.

6. 통계분석

모든 연구 결과의 자료는 통계 프로그램인 SAS(Statistic Analysis System)를 이용하여 평균 및 표준편차를 계산하였으며, 군간의 비교에서 각각의 요인은 분산분석(Analysis of Variance, ANOVA)을 사용하였고, Duncan's multiple range test로 $p=0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 울무 물 추출물의 경구투여에 의한 사이토카인 생성능

본 실험에서는 울무 물 추출물을 50 mg/kg BW/day와 500 mg/kg BW/day의 농도로 경구 투여한 마우스로부터 복강 대식세포를 분리해 낸 다음 활성화된 대식세포가 생성해 낸 전구 염증성(pro-inflammatory) 사이토카인 IL-1 β , IL-6, TNF- α 와 항염증성(anti-inflammatory) 사이토카인 IL-10의 생성량을 측정하였고, 각 군별 양의 대조군으로는 LPS(15 mg/ml)로 자극한 대식세포로부터 생성된 사이토카인을 측정함으로써 대식세포의 활성화에 대한 지표로 삼았다.

1) IL-1 β 생성량

활성화된 대식세포의 지표로 세포배양액의 IL-1 β 의 함량을 ELISA cytokine kit(R&D system, USA)를 이용하여 측정 한 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 2주 투여의 결과, LPS로 처리하지 않은 경우 50 mg/kg BW의 농도에서 140.34 \pm 0.23 pg/ml로 대조군(98.67 \pm 1.30 pg/ml)에 비해 유의적으로 높은 생성을 보였고, 반면 500 mg/kg BW 농도에서는 36.26 \pm 0.76 pg/ml로 대조군에 비해 낮은 생성량을 나타냈다. LPS 처리에 의한 영향도 50 mg/kg BW의 농도에서 300.12 \pm 2.25 pg/ml로 대조군(102.99 \pm 8.32 pg/ml)에 비해 유의적으로 높은 생성을 보였고, 500 mg/kg BW의 농도에서는 96.61 \pm 9.32 pg/ml로 대조군에 비해 낮은 생성량이 관찰되었다. 동일 시료의 비교가 아닌 제한점은 있으나, 다시마 섭취에 대한 연구에 따르면 정상과 당뇨 마우스 대식세포의 사이토카인 분비에서 대조식이와 다시마를 첨가하는 실험식이군의 복강 대식세포로부터 IL-1 β 와 TNF- α 생성능을 측정 한 결과, 다시마 섭취군에서 IL-1 β 분비가 50% 정도 높게 나타나 다시마 식이가 마우스의 복강 대식세포를 활성화시키는 것으로 보고하였다¹⁹⁾. 따라서 본 실험의 울무 추출물을 경구 투여한 마우스의 대식세포에서 IL-1 β 분비량이 50 mg/kg BW의 농도에서 대조군에 비해 유의적으로 증가되어 울무 추출물이 마우스의 복강 대식 세포를 활성화하여 IL-1 β 생성을 촉진시킴으로써 면역 증강에 영향을 미칠 가능성이 있을 것으로 사료된다.

2) IL-6 생성량

대식세포의 활성화에 대한 지표로 세포 배양액의 IL-6 함량을 측정하였으며, 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 2주 투여군의 결과, LPS로 처리하지 않은 경우 50 mg/kg BW와 500 mg/

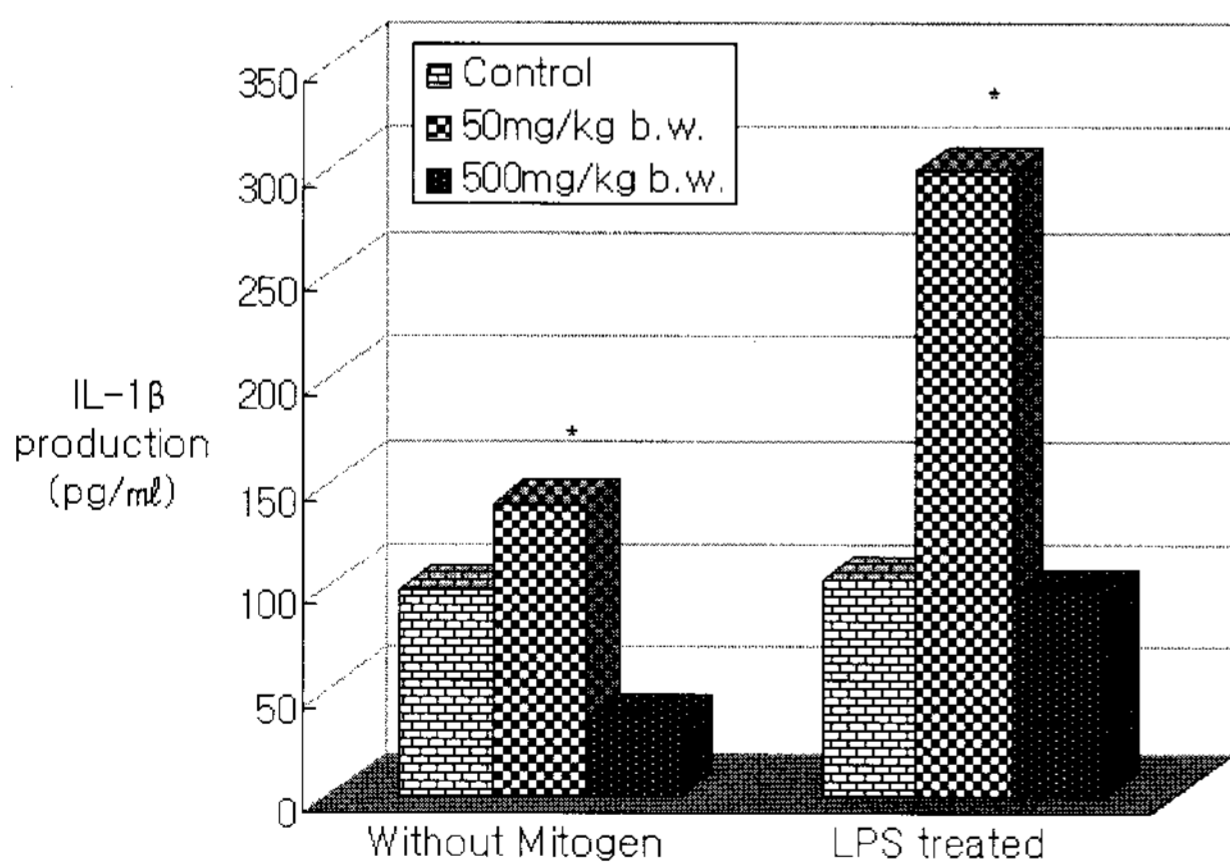


Fig. 1. IL-1 β production by activated peritoneal macrophage of mouse after oral administration of Job's tear water extract during 2 weeks with or without LPS treatment.

* Significant difference from control at $p < 0.05$.

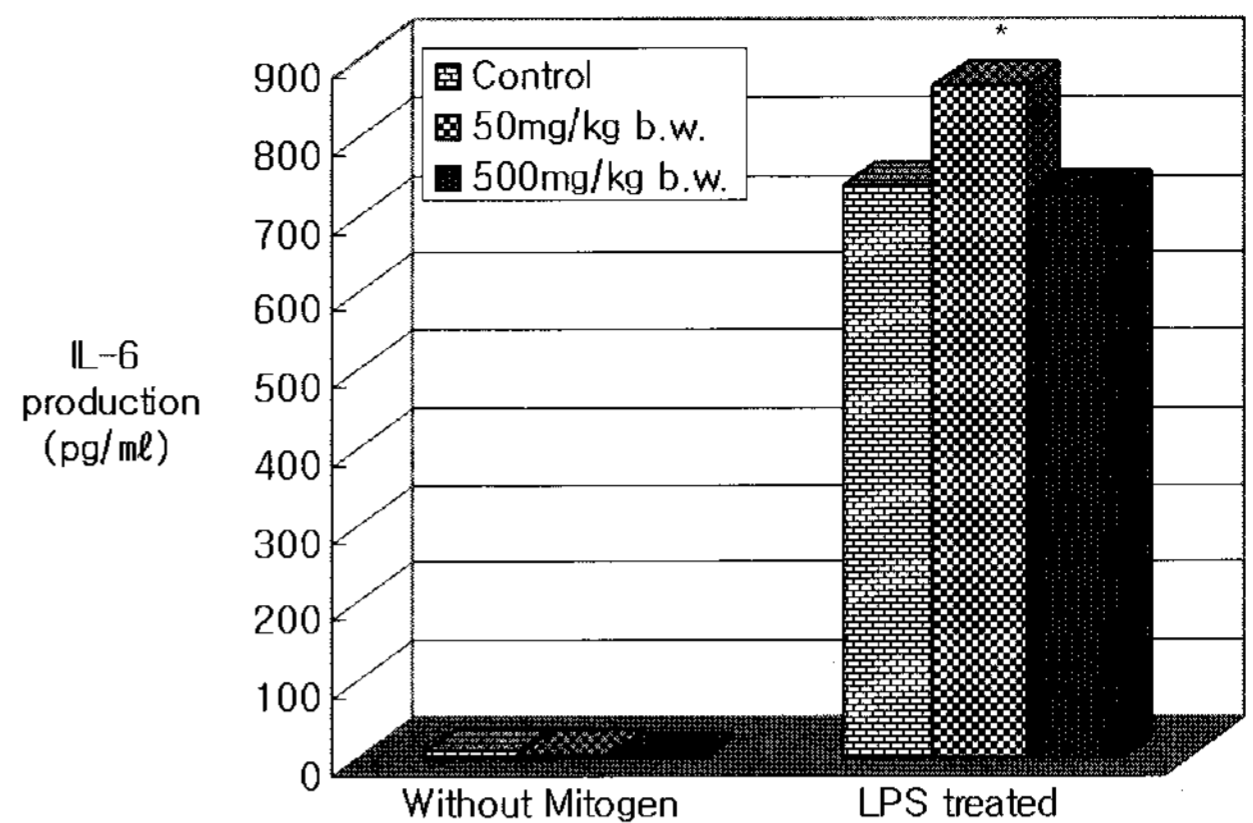


Fig. 2. IL-6 production by activated peritoneal macrophage of mouse after oral administration of Job's tear water extract during 2 weeks with or without LPS treatment.

* Significant difference from control at $p < 0.05$.

kg BW 농도에서 대조군보다 낮은 생성을 보였다. LPS 첨가시에는 50 mg/kg BW 농도군에서 868.25 \pm 4.33 pg/ml로 대조군인 737.60 \pm 3.57 pg/ml에 비해 유의적으로 높은 IL-6 생성량을 보였고, 500 mg/kg BW 농도군에서는 대조군에 비해 낮은 생성능을 보였다. 투여 농도와 관련된 연구에 의하면 울무의 물 추출물을 100 mg/kg/day씩 마우스에 10일간 투여하였을 때 56.6%의 종양 성장 저지율을 보였다고 보고하였다²⁰⁾. 이러한 결과는 500 mg/kg BW의 농도보다는 50 mg/kg BW 농도군의 울무 추출물이 마우스의 복강 대식세포를 활성화시켜 IL-6의 생성을 촉진시킴으로써 면역 기능 증강에 효과적으로 작용할 가능성이 있을 것으로 사료된다.

3) TNF- α 생성량

대식세포의 활성화에 대한 지표로 세포 배양액의 TNF- α 함량을 측정하였으며, 결과는 Fig. 3에 나타내었다. 2주 투여군에서 LPS로 처리하지 않은 경우, 50 mg/kg BW 농도에서 456.12 \pm 3.45 pg/ml로 대조군(322.44 \pm 0.33 pg/ml)보다 높은 생성을 보였고, LPS 처리에 의한 경우 50 mg/kg BW 농도에서 895.02 \pm 2.03 pg/ml로 유의적으로 높은 생성량을 나타내었다. 다른 연구의 결과에 따르면 톳 에탄올 추출물이 cytotoxic T-cell(272%, 239%)과 면역글로불린(440%, 200%), TNF의 분비(68%, 160%)를 증가시켰다는 보고가 있다²¹⁾. 이상의 결과, 울무 추출물을 경구 투여한 마우스 복강 대식세포의 IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-10 생성이 사이토카인 종류에 따라 다소 차이를 보이기는 하지만 LPS 자극에 의해 증가되었는데, 이는 LPS 자극으로 대식세포의 C3 수용체에 작용하여 체내를 보호하려는 기전에 의한 것으로 사료된다²²⁾. LPS로 자극하지 않은 경우는 대조군에 비해 낮은 생성능을 보이거나 큰 차이

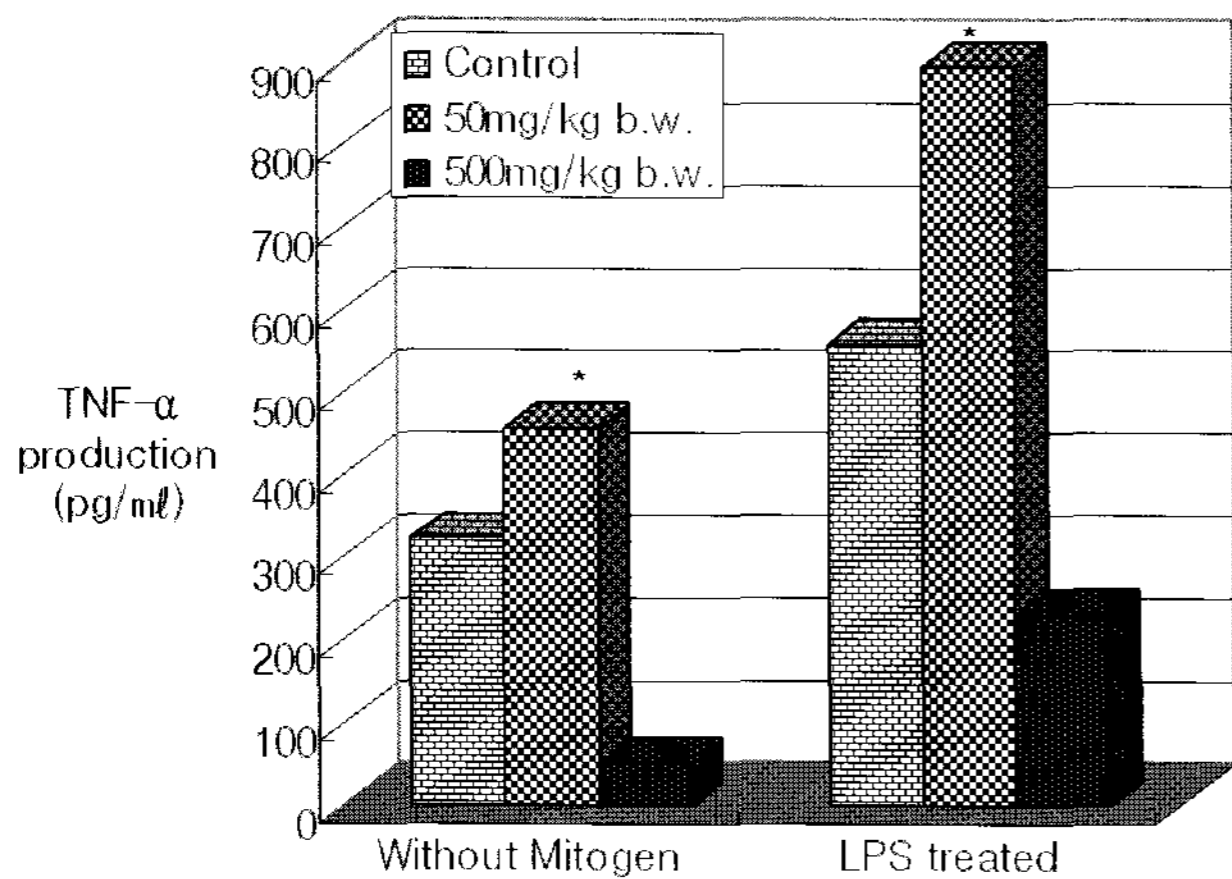


Fig. 3. TNF- α production by activated peritoneal macrophage of mouse after oral administration of Job's tear water extract during 2 weeks with or without LPS treatment.

* Significant difference from control at $p < 0.05$.

를 나타내지 않았으나, 대내외적 자극에 의한 면역 체계 활성화를 알아보기 위해 LPS를 첨가하여 울무 추출물의 면역 활성을 본 결과에서는 50 mg/kg BW의 농도에서 높은 활성을 나타냈다. 이는 울무 추출물 섭취에 의해 면역 활성을 잠재적으로 가지고 있다가 항원(외부 물질) 침입시 울무 추출물이 면역세포의 활성화에 작용하여 면역 기능에 영향을 미칠 가능성을 제시하고 있는 것으로 사료된다.

4) IL-10 생성량

IL-10은 Th2 세포에서 생산된 사이토카인으로 Th1(IL-1 β , IL-6, TNF- α)의 사이토카인 생산을 억제적으로 조절하여 여러 가지 염증성 사이토카인의 생성의 균형을 조절하는 사이토카인으로 알려져 있다. 또한, TNF- α , IL-6, IFN- γ 와 같은 전구 염증성(pro-inflammatory) 사이토카인들이 과량 분비되어 IL-10과 같은 항염증성(anti-inflammatory) 사이토카인들과 균형을 잘 이루지 못하게 되면 숙주의 생존력에 크게 영향을 미친다는 보고가 있다²³⁾. 대식세포의 활성화에 대한 지표로 세포 배양액의 IL-10 분비량의 결과는 Fig. 4에 나타내었다. LPS로 처리하지 않은 경우 50 mg/kg BW 농도에서 대조군 42.22 \pm 0.32 pg/ml보다 높은 생성량을 보였고, LPS 첨가시에는 50 mg/kg BW 농도군에서 98.56 \pm 14.26 pg/ml로 대조군인 84.47 \pm 7.33 pg/ml에 비해 높은 IL-10 생성량을 보였다. 이와 같이 IL-10 사이토카인 결과에서는 다른 전구 염증성 사이토카인의 결과와는 대조적으로 미토젠을 첨가하지 않은 경우에도 비교적 높은 분비능을 보여 이는 울무 투여가 항염증성 사이토카인으로 하여금 항상성을 유지하게 하는 기능을 하는 것으로 사료된다. 이러한 연구 결과는 항원을 자극하였을 때

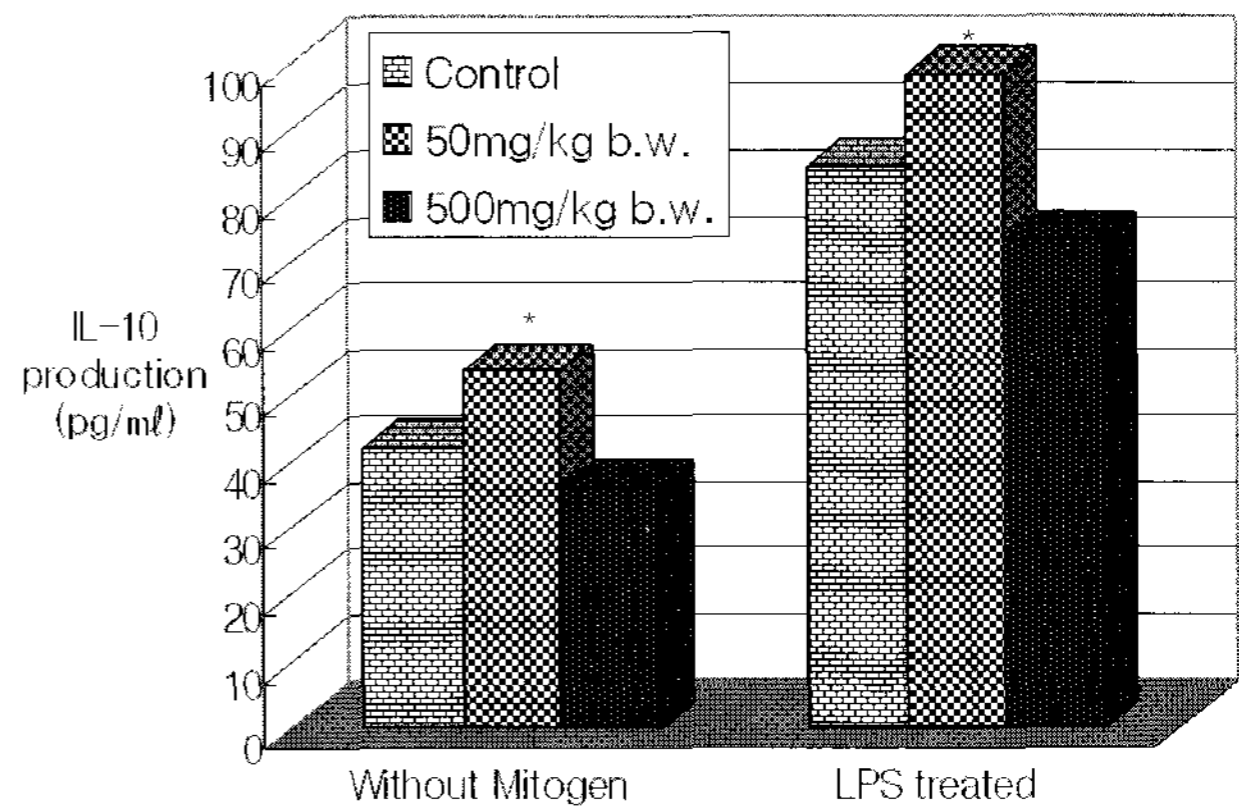


Fig. 4. IL-10 production by activated peritoneal macrophage of mouse after oral administration of Job's tear water extract during 2 weeks with or without LPS treatment.

* Significant difference from control at $p < 0.05$.

IL-1 β , IL-6, TNF- α 등이 많이 생성되어 면역반응이 증가되지만, 이때 IL-10의 생성이 함께 증가하면서 과잉된 면역반응을 조절할 수 있는 것으로 생각된다. 따라서 IL-10를 결과를 통해 울무가 외부로부터 항원 자극 시 전구염증성 사이토카인 항염증 사이토카인간의 균형을 조절하여 면역능을 발휘하는 것으로 사료된다.

요약 및 결론

생체 내(ex vivo) 실험에서 울무 추출물을 2주 동안 격일로 0, 50, 500 mg/kg BW의 농도로 마우스에 경구투여한 후 복강 대식세포에서 분비하는 사이토카인(IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-10) 생성량을 검색한 결과 50 mg/kg BW의 농도에서 LPS로 자극 시 대조군에 비해 높은 사이토카인 생성능을 보였고, IL-1 β 의 생성량은 50 mg/kg BW의 농도군에서 가장 높은 생성량을 보였다. IL-6의 경우에도 50 mg/kg BW의 농도에서 높은 사이토카인 생성량을 나타내었다. 특히, IL-6의 경우 미토젠을 첨가하지 않은 군에서는 울무를 첨가하여도 반응을 보이지 않다가 미토젠 첨가한 경우 높은 사이토카인 생성능을 보여주어, 이는 일상적인 상태에서 울무를 첨가한 경우, 보다 외부 항원으로부터 자극이 주어졌을 때 울무 첨가가 더 효과를 나타낼 가능성을 보여주는 결과라 할 수 있다. TNF- α 생성량은 LPS 첨가시 50 mg/kg BW의 농도 투여군에서 가장 높은 생성을 나타냈다. IL-10의 경우는 전구 염증성 사이토카인 IL-1 β , IL-6, TNF- α 의 결과와는 다르게 미토젠을 첨가하지 않은 군에서도 상승하는 경향을 나타내어 울무 투여가 항염증성 사이토카인으로 하여금 급격하게 변하는 것을 막아 항상성을 유지하게 하는 기능을 할 가능성

을 보여주고 있다. 이상의 결과로 울무 열수 추출물은 대식세포의 활성화에 작용하여 사이토카인 생성을 증가시키는데 영향을 미칠 수 있을 것으로 기대된다. 따라서 울무 추출물은 마우스 면역계의 조절 기전에 작용하여 대식세포의 활성화를 유도함으로써 면역세포 활성을 직접적으로 촉진시키거나 또는 이와 관련된 다른 면역반응에 영향을 미침으로서 면역 활성화에 효과적으로 작용할 가능성이 있으리라 사료된다.

참고문헌

1. Yee, ST and Chang, SH. The effect of Korean mistletoe extract M11C on IL-1 β release and expression from macrophages. *Immune Network*. 2:170-178. 2001
2. Kim, HP, Son, KH and Kang, SS. Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *J. Pharmacological Sci.* 96:229-245. 2004
3. Park, JS and Chyun, JH. Effects of low fat diet and saturated fat supplementation on the immune status of BALB/c mouse. *Kor. J. Nutr.* 26:578-585. 1993
4. Pyo, MY and Su, MH. Effects of *Phellinus linteus* extracts on the humoral immune response in normal and cyclophosphamide-treated mice. *J. of Applied Pharmacol.* 9: 194-200. 2001
5. Wagner, H. Search for plant derived natural products with immunostimulatory activity. *Pure & Appl. Chem.* 66:1271-1274. 1990
6. Kim, GH and Sunwoo, YK. Effects of small water dropwort extract on cellular immune response of mice. *J. Bacteriol. Virol.* 28:419-430. 1993
7. Park, HA. Enhancing effect of *Ixeris sonchifolia* Hance *Oenanthe javanica* and *Fagopyrum esculentum* Moench on mouse immune cell activation. Master's Thesis, Sookmyung Women's Uni., 2003
8. Park, KY and Rhee, SH. The antitumor effect in sarcoma-180 tumor cell of mice administered with Japanese apricot, garlic ginger doenjang. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 21:599-606. 2005
9. Ko, MS, Shin, KM and Lee, MY. Effects of *Hizikia fusiforme* ethanol extract on antioxidative enzymes in ethanol induced hepatotoxicity of rat liver. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 31: 87-91. 2002
10. Yun, HJ. Effect of *Hizikia fusiforme* water extracts on mouse immune cell activation. Master's Thesis, Sookmyung Women's Uni., 2003
11. Chae, KY and Hong, JS. The quality characteristics of jeolpyon with different amounts of *Job's Tears* flour. *J. Kor. Soc. Food Sci.* 5:770-776. 2007
12. Kim, HP, Son, KH and Kang, SS. Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *J. Pharmacological Sci.* 96:229-245. 2004
13. Ryu, HS, Kim, Jin and Kim, HS. Enhancing effect of *Sorghum bicolor* L. Moench(*Sorghum, su-su*) extracts on mouse spleen and macrophage cell activation. *Kor. J. Food & Nutr.* 19: 176-182. 2006
14. Ryu, HS. Effects of *Job's tears*(yul-moo) extracts on mouse splenocyte and macrophage cell activation. *Kor. J. Food & Nutr.* 21:1-6. 2008
15. Park, Y, Suzuki, H and Lee, YS. Effect of coxi on plasma, liver and fecal lipid components in the rat fed on lard or soybean oil-cholesterol diet. *Biochem Med. Metab. Biol.* 39:7-10. 1988
16. Ary, MB, Richardson, M and Shewry, PR. Purification and characterization of an insect alpha-amylase inhibitor/endo-chitinase from seeds of *Job's tears*. *Biochem. Biophys. Acta.* 999:260-266. 1988
17. Kwon, SJ, Lim, CY and Lee, SY. Fibrinolytic activities and effect gamma-irradiated on seeds from *Coix lacryma-jobi* L., *Carthamus tinctorius* L. and *Malva verticillata* L. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* 21:20-27. 2006
18. Kwak, CS, Lim, SJ, Kim, SA, Park, SC and Lee, MS. Antioxidative and antimutagenic effects of Korean buckwheat, sorghum, millet and *Job's Tears*. *J. Food Sci. Nutr.* 6: 921-929. 2004
19. Cho, SH, Yang, KM, Bae, BS, In, SA and Yu, RN. Effect of sea tangle intake on cytokine production in macrophage from normal and diabetic mice. *J. Food Sci. Nutr.* 27: 952-959. 1988
20. Ryu, BH, Kim, DS, Cho, KJ and Sin, DB. Antitumor activity of seaweeds toward sarcoma-180. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 25:595-596. 1987
21. Shan, BE, Yoshida, Y, Kuroda, E and Yamashira, U. Immunomodulating activity of seaweed extract on human lymphocytes *in vitro*. *Int. J. Immunopharmacol.* 21:59-70. 1999
22. Park, HR, Kim, SH, Yee, ST, Byun, MW and Jo, SK. Effect of a herb mixture(Him-1) on the protection of the hematopoietic immune system and self-renewal tissues against

radiation damage. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 34:605-612. 2005

23. Trinchieri, G. A proinflammatory cytokine with immunoregulatory function that bridge innate resistance and anti-

gen-specific adaptive immunity. *Ann. Rev. Immunol.* 13:251-276. 1995

(2008년 4월 4일 접수; 2008년 5월 14일 채택)