

## 한국산 겨우살이 열매 추출물의 Immunoadjuvant 효과

이정림<sup>1,2</sup> · 안재형<sup>1,2</sup> · 황성구<sup>3</sup> · 정연화<sup>1,2</sup> · 양효선<sup>1,2</sup> · 강태봉<sup>4</sup> · 김종배<sup>4</sup> · 유영춘<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>건양대학교 의과대학 미생물학교실, <sup>2</sup>건양대학교 의과대학 명곡의과학연구소,

<sup>3</sup>한경대학교 동물생명환경과학부, <sup>4</sup>한동대학교 생명식품공학부

## The Immunoadjuvant Activity of The Water-Extract of Korean mistletoe (*Viscum album* var. *coloratum*) Fruit

Junglim Lee<sup>1,2</sup>, Jae-Hyung Ahn<sup>1,2</sup>, Seong-gu Hwang<sup>3</sup>, Yeon-Hwa Jung<sup>1,2</sup>, Hyo-Seon Yang<sup>1,2</sup>,  
Tae-Bong Kang<sup>4</sup>, Jong-Bae Kim<sup>4</sup> and Yung-Choon Yoo<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology, College of medicine, Konyang University, Daejeon, Korea

<sup>2</sup>Myonggok Institute for Medical Science, College of Medicine, Konyang University, Daejeon, Korea

<sup>3</sup>Division of Animal Life and Environmental Science, Hankyong National University, Anseong, Korea

<sup>4</sup>Department of Biotechnology & Food Science, Handong University, Pohang, Korea

**Abstract** – To evaluate the immunomodulatory activity of a water extract (KMF-WE) of Korean mistletoe (*Viscum album* var. *coloratum*) fruit, we examined its ability to induce humoral and cellular immune response against keyhole limpet hemocyanine (KLH). Immunized mice with KLH admixed with KMF-WE (KLH/KMF-WE) showed significant induction of KLH-specific antibodies compared to mice immunized with KLH alone. The assay for determining isotypes of antibodies revealed that KMF-WE augmented KLH-specific-IgG1 and -IgG2a production. *In vitro* T lymphocyte proliferation analysis against KLH revealed that the splenocytes of mice immunized with KLH/KMF-WE showed a significantly higher proliferative ability than those from mice immunized with KLH alone. The culture supernatants of splenocytes, which were harvested from mice immunized with KLH/KMF-WE, showed higher levels of both Th-1 type (IL-2, IFN- $\gamma$ ) and Th-2 type (IL-4) cytokines in response to KLH stimulation compared to those from mice immunized with KLH alone. Also, in delayed-type hypersensitivity (DTH) assay, mice immunized with KLH/KMF-WE showed a significantly higher reaction to KLH than mice treated with KLH alone. These results suggest that KMF-WE possess immunoadjuvant activity to enhance both antigen-specific humoral and cellular immune responses against protein antigens (KLH).

**Key words** – Korean mistletoe, fruit-water extract, adjuvant, antibody, cytokines

유럽에 서식하고 있는 겨우살이과(Loranthaceae)에 속하는 겨우살이(*Viscum album*, mistletoe)는 오래 전부터 민간 요법으로서 고혈압, 동맥경화증, 암 등의 질병에 대해 치유 효과가 있는 신비의 약제로 사용되었으며, 1921년부터 항암 활성을 인정받아 종양에 대한 치료제 및 항암 보조제로서 임상적으로 사용되고 있다.<sup>1-3</sup> 유럽산 겨우살이는 체액성 및 세포성 면역반응을 증강시키는 효과가 있으며,<sup>4</sup> 종양세포의 증식을 억제하고 암환자의 생존을 증진시키는 것으로 보고되었다.<sup>5-11</sup> 이러한 유럽산 겨우살이의 항암활성의 본체는 당단백질인 lectin 성분이 주로 담당하며 숙주에 따라 lectin

성분의 차이가 있음이 알려졌다.<sup>12-14</sup>

한국산 겨우살이 (*Viscum album* var. *coloratum*, Korean mistletoe)는 유럽산 겨우살이와는 종이 다른 겨우살이로, 주 성분인 lectin을 비롯하여 탄수화물, alkaloid, viscotoxin, 지질성분 등 다양한 성분으로 구성되어 있다.<sup>6,9,15-16</sup> 한국산 겨우살이의 잎과 줄기 추출물(KM-110)의 lectin 성분은 강력한 세포 독성 활성 및 암세포에 대한 apoptosis 유도 활성<sup>17</sup>과 탐식세포 및 NK 세포를 활성화시켜 종양의 전이를 억제하는 활성이 있으며,<sup>18</sup> 항원에 대한 특이적 면역증강 활성에 기인되는 adjuvant 활성도 가짐이 확인되었다.<sup>19</sup> 또한 KM-110성분 중 lectin 이외의 여러 종류의 단백질 분획이 함유되어 있으며, 또한, 비단백질 성분들은 각각 생리활성

\*교신저자(E-mail): yc\_yoo@konyang.ac.kr  
(Tel): +82-42-600-6495

이 다르며, 일부의 물질은 생체에 독성을 나타낼 수 있다고 보고되었다.<sup>20, 21)</sup>

겨우살이의 생리활성에 관한 연구는 잎과 줄기 성분에 집중되어 왔으며, 열매의 생리활성에 대한 정보는 거의 전무한 실정이다. 최근 저자들은 한국산 겨우살이 열매의 생리활성에 관한 연구에서, 열매 과육의 물추출물이 대식세포를 활성화하여 사이토카인의 분비를 촉진하는 면역증강 효과가 있는 것을 발견하였다.<sup>22)</sup> 이 연구결과는 항원에 의한 자극 없이 겨우살이 열매 추출물이 비특이적으로 대식세포를 활성화시키는 작용을 가지고 있음을 나타낸 것이다.

본 연구에서는 한국산 겨우살이 열매 성분이 특정 항원에 의해 유도되는 항원 특이적인 면역작용에 대해 면역증강효과(immunoadjuvant activity)를 가지는가를 규명하기 위한 목적으로, 마우스를 이용한 동물모델에서 한국산 겨우살이 열매의 물추출물(Korean mistletoe fruit-water extract; KMF-WE)이 항원물질(KLH; keyhole limpet hemocyanine)에 대한 항원 특이적인 세포성 및 체액성 면역작용을 상승시키는가를 검토하였다.

## 재료 및 방법

**겨우살이 열매의 수집 및 추출** - 연구에 사용한 한국산의 겨우살이 열매는 2006년 9월 지리산에서 참나무에 서식하는 겨우살이로부터 채집하였다. 한국산 겨우살이 열매 물추출물(Korean mistletoe fruit-water extract; KMF-WE)의 추출은 3 kg의 한국산 겨우살이 열매로부터 과육만을 분리하고, kg당 3 L의 물을 첨가한 후 3일간 냉장하였다. 그 후, buchner funnel를 이용하여 감압여과하고, 감압 농축을 실시하여 흰색의 추출물 KMF-WE(225 g, 수율 8.5%)를 얻었다. 추출이 끝난 KMF-WE는 PBS (phosphate buffer saline pH 7.3)로 10 mg/ml의 농도로 조정하여 stock solution으로 만든 후, 20°C에 저장하면서 실험에 사용하였다. 겨우살이 열매 추출물의 열처리는 autoclave를 이용하여 실시하였다.

**마우스 면역** - 실험에 사용된 마우스는 생후 6-8주령의 Balb/c 마우스(암컷)를 Orient Ltd., (Seoul, Korea)로부터 구입하여 사용하였다. 마우스 면역 실험은 Keyhole limpet hemocyanine (KLH, 20 µg/mouse) 단독 혹은 KMF-WE(50 µg/mouse)와 같이 혼합하여 (KLH/KMF-WE)을 그룹당 3-5마리 마우스에 각각 피하주사 하였다. 1차 면역 2주 후에 같은 방법으로 2차 면역을 행하였다. 2차 면역 후부터 1주일 간격으로 retro-orbital bleeding으로 마우스 혈액을 채취하여 혈청을 분리한 후 항체를 측정하였다.

**항체가 측정** - 마우스 혈청내의 KLH 특이 항체가는 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 방법으로 측정하였다.<sup>23)</sup> Flat-bottom 96 well plate에 KLH항원을 50mM bicarbonate buffer와 반응시켜 4°C에서 overnight coating한

후 1% BSA (Sigma, MO, USA) 용액을 첨가하여 37°C에서 2시간 반응하여 blocking 시킨 후 세척하였다. 마우스의 혈액에서 채취한 혈청을 1/1000로 희석하여 각 well에 첨가하고 37°C에서 2시간 반응 후, 세척하였다. 전체항체의 역가를 측정하기 위하여 2차 항체로 peroxidase가 결합된 goat anti-mouse IgG+A+M 혼합액(Zymed, USA)을 각 well에 첨가하고 37°C에서 2시간 반응 후 세척하였다. 그 다음 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine(TMB; Calbiochem, Germany) 기질용액을 각 well에 첨가하여 37°C에서 1시간 반응시켜 발색시킨 후 0.5 M sulfuric acid를 첨가하여 반응을 중단시킨 후 450 nm에서 ELISA plate reader(BioRad, CA, USA)에서 흡광도를 측정하였다. 항체의 sub-isotype을 결정하기 위하여 2차 항체로 peroxidase가 결합된 goat anti-mouse IgG1, IgG2a 및 IgM를 각 well에 첨가하고 37°C에서 2시간 반응시켰다.

**T 세포 증식 반응** - 림프구 증식반응은 그룹당 3마리의 마우스를 위에 언급된 방법으로 KLH 단독 또는 KLH/KMF-WE로 2주 간격으로 2차 면역시켰다. 1차 면역한지 4주 후 마우스로부터 비장세포를 분리하여 96 well culture plate에  $5 \times 10^5$ /well의 농도로 분배하고 0, 0.635, 2.5 및 10 µg/well 농도의 KLH 항원을 첨가하여 24시간 자극하였다. 림프구 증식 정도는 Cell Counting Kit(Allexis, MA, USA) 용액을 각 well에 첨가한 후 2시간 반응시켜 발색시킨 후 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

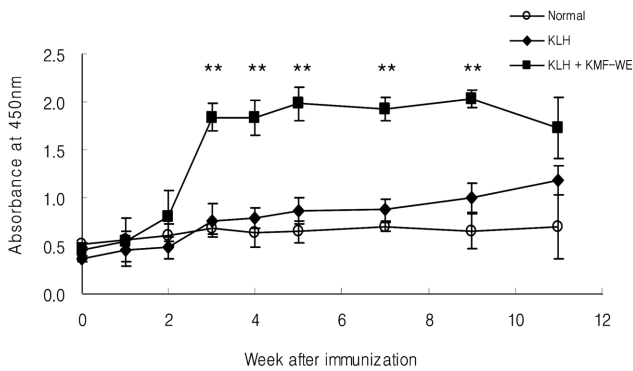
**Cytokine 분비 정량** - 그룹당 3마리의 마우스를 2주 간격으로 KLH 혹은 KLH /KMF-WE로 2회 면역을 하였다. 1차 면역한지 4주 후에 마우스로부터 비장세포를 분리하여  $5 \times 10^5$ /well로 96 well plate에 분배한 후 10 µg/well 농도의 KLH로 24시간 동안 자극하였다. 24시간 후에 배양 상청액을 수집하여 IL-2, IL-4 및 IFN- $\gamma$ 의 생성량을 ELISA kit (R&D, MN, USA)를 사용해서 측정하였다.

**Delayed-type hypersensitivity (DTH) 실험** - 그룹당 3마리의 마우스에 KLH (20 µg/mouse) 단독 혹은 KLH/KMF-WE (KLH; 20 µg/mouse, KMF-WE; 50 µg/mouse)을 2주 간격으로 피하주사하여 2회 면역하고, 2차 면역 후 7일 후에 모든 마우스의 양쪽 발바닥에 KLH (20 µg/mouse)를 intrafoodpad (i.f.)로 주사하였다. 주사 후에 발바닥의 두께를 4일 동안 측정하였다. DTH의 반응은 footpad swelling의 % 증가로 나타내었다.<sup>24)</sup>

## 결 과

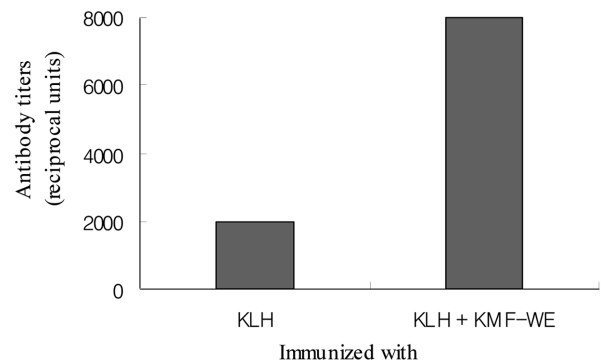
**KLH 항원에 대한 특이항체의 증가** - KLH의 면역에 의해 유도되는 항원 생산에 대해 KMF-WE가 미치는 영향을 알아보기 위하여, 마우스를 KLH 혹은 KLH/KMF-WE 혼합액으로 2회 피하주사 하여 면역시킨 후 항체를 주별로 분

석하였다 (Fig. 1). 그 결과, 이전의 연구에서 관찰되었듯이 KLH만을 면역한 군에서는 항체가 상승이 극히 미약했으나,<sup>18)</sup> KMF-WE와 함께 KLH를 면역해 준 마우스에서 1차 면역 3주 후부터 KLH 단독으로 면역한 마우스에 비해 항체가 상승하였다. 특히 5주차에서는 KLH/KMF-WE 혼합

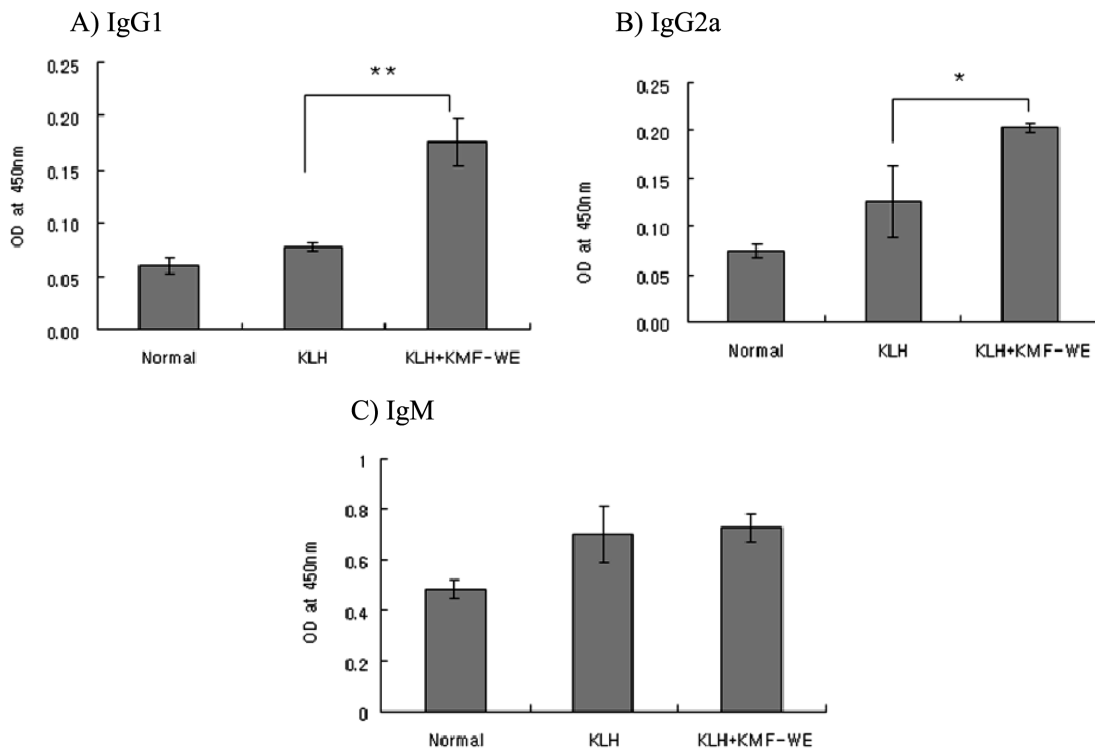


**Fig. 1.** Effect of KMF-WE on induction of KLH-specific antibody response. Five Balb/c mice per group were immunized s.c. twice at the interval of 2 weeks with PBS (normal), KLH or KLH/KMF-WE. The antibody titers of serum specimens were measured by ELISA as described in the Experimental procedures. \*\* $p < 0.001$  compared with the control group (KLH alone) by Student's two-tailed  $t$ -test.

액으로 면역한 마우스 혈청의 항체가 KLH단독으로 면역한 마우스의 항체가 보다 4배 높았다 (Fig. 2). 면역한 마우스의 혈청 중에 함유되어 있는 KLH에 특이적인 항체의 isotype 을 ELISA로 측정된 결과 (Fig. 3), KMF-WE/KLH 를 면역한 마우스가 KLH만으로 면역한 마우스에 비해 현저히 높은 IgG1과 IgG2a 항체를 보였다. 이들 결과로부

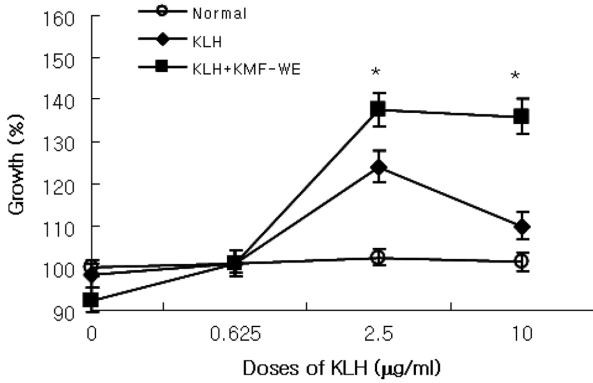


**Fig. 2.** Comparison of antibody-inducing activity between mice immunized with KLH and KLH/KMF-WE 5 weeks after primary immunization. The antibody titers were expressed as the reciprocal of the highest serum dilution which expressed an absorbance value that was at least twice that of the wells containing normal sera.



**Fig. 3.** Determination of subisotypes of KLH-specific antibodies in serum specimens. Three Balb/c mice per group were immunized s.c. twice with the indicated conditions as the same method described in Fig. 1. Sub-isotypes of KLH-specific antibodies were determined by ELISA using 1000-fold diluted serum specimens obtained 5 weeks after the primary immunization. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  compared with the control group (KLH alone) by Student's two-tailed  $t$ -test.

터 KMF-WE는 KLH에 대한 IgG1 및 IgG2a특정 유형의 항체 생산을 촉진시키는 adjuvant 효과가 있는 것으로 사료되었다.

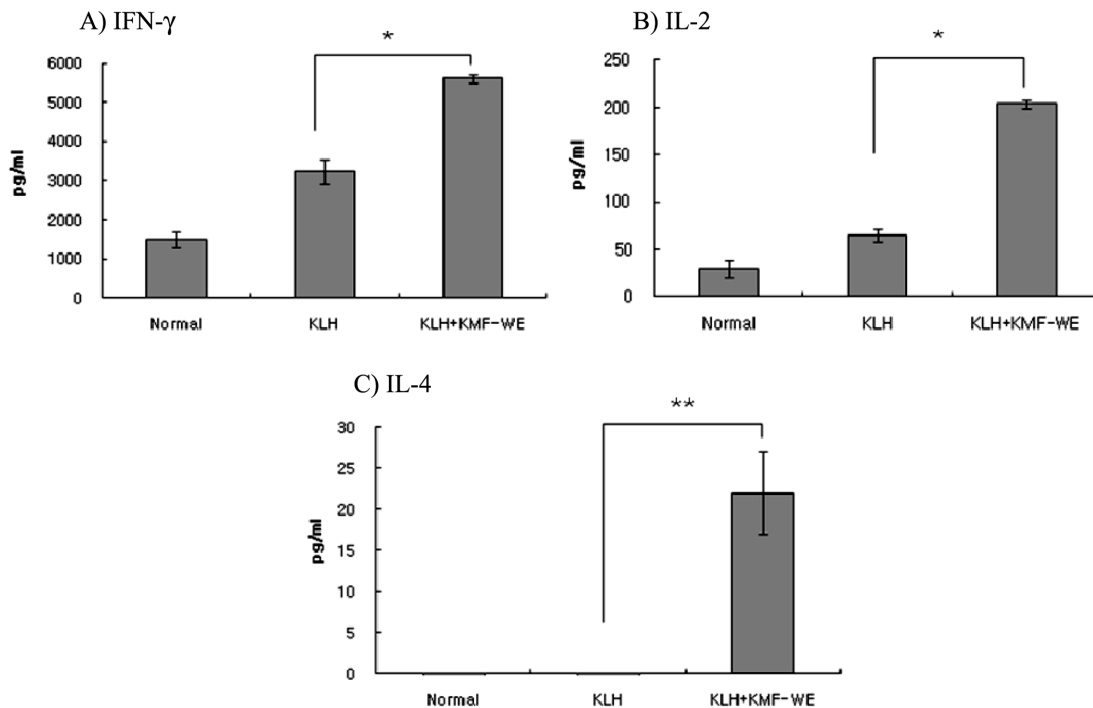


**Fig. 4.** Effect of KLM-WE on T lymphocyte proliferating activity in response to KLH. Three Balb/c mice per group were immunized s.c. twice at 2-week intervals with the indicated conditions. Four weeks after the primary immunization, splenocytes were harvested from the immunized mice and stimulated with indicated doses of KLH for 24 hours. The proliferating activity of KLH-specific T lymphocytes were measured using Cell counting kit according to manufacturer's protocol and represented as percentage of growth.

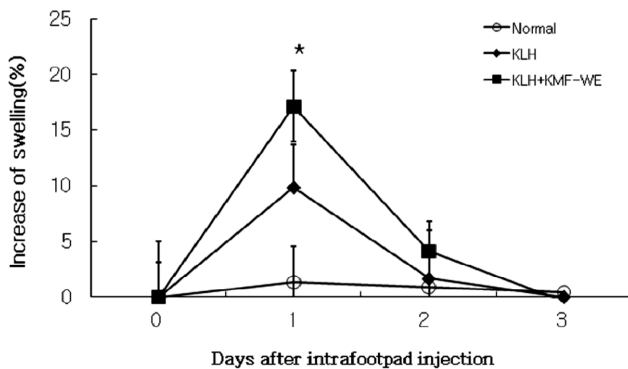
**KLH 항원 특이적인 T 세포 반응의 증가** - KMF-WE의 adjuvant 효과를 세포성 면역반응의 관점에서 검토하기 위하여 *in vitro*에서 항원 특이적인 T 세포 증식 반응을 조사하였다. KLH 단독 혹은 KLH/KMF-WE 혼합액을 2회 면역한 마우스의 비장세포와 여러 농도의 KLH (0~10 µg/ml)를 배양기에서 24시간 혼합 배양한 후 T 세포의 증식을 측정된 결과, KLH /KMF-WE를 면역한 마우스의 T 세포의 증식이 현저히 높은 것으로 관찰되었다 (Fig. 4). 이들 결과로부터 KMF-WE는 T 세포를 활성화시켜 항원 특이적인 세포성 면역반응을 상승시키는 adjuvant 효과가 있는 것으로 사료되었다.

**KLH 특이적인 cytokine의 생산** - KMF-WE에 의한 KLH 특이적인 면역반응 증가 활성을 측정하기 위해 KLH 단독 또는 KLH/KMF-WE으로 2회 면역한 마우스에서 수집한 비장세포를 KLH 항원으로 24시간 자극한 후 배양 상청액에서 분비된 cytokine을 측정하였다 (Fig. 5). KLH/KMF-WE를 주사한 마우스의 비장세포는 KLH만을 주사한 마우스의 비장세포보다 KLH항원에 특이적인 Th-1-type cytokine (IL-2와 IFN-γ) 및 Th-2-type cytokine (IL-4)의 분비가 모두 현저히 상승됨이 관찰되었다.

**KMF-WE에 의한 DTH 증가 활성** - KLH에 의해서 일어나는 세포 면역 반응에 대한 KMF-WE의 adjuvant효과를 실



**Fig. 5.** The effect of KMF-WE on KLH-specific cytokine production from splenocytes. Three Balb/c mice per group were immunized s.c. twice at 2-week intervals with the indicated conditions. Four weeks after the primary immunization, splenocytes were harvested from the immunized mice and stimulated with KLH (10 µg/ml) for 24 hours. The level of IFN-γ (A), IL-2 (B) and IL-4 (C) in culture supernatants was determined by ELISA kits. \*p<0.05, \*\*p<0.01 compared with the control group (KLH alone) by Student two-tailed t-test.



**Fig. 6.** Effect of KMF-WE on induction of KLH-specific DTH reaction. DTH reaction was carried out using mice immunized twice with the indicated conditioned as described in Experimental procedures. DTH reaction was represented as the percentage increase of footpad swelling. \* $p < 0.05$  compared with the control group (KLH alone) by Student's two-tailed *t*-test.

협하기 위해서, *in vivo*에서 DTH 유도능을 조사하였다. KLH 단독 또는 KLH/KMF-WE으로 마우스를 2회 면역하고 7일 후에 각 마우스의 footpad에 KLH 항원을 주사한 후 footpad swelling을 관측하였다 (Fig. 6). KMF-WE와 혼합하여 KLH로 면역시킨 마우스에서 KLH 단독으로 면역한 마우스 보다 주사 후 1일째에 현저한 DTH footpad swelling이 관찰되었다. 이러한 DTH 반응은 두 그룹 모두에서 footpad 주사 후 1일째에 최고조에 이르렀다가 점차 감소하여 주사 3일째에 이르러 거의 소멸되었다.

## 고 찰

이전의 연구에서 본 연구진은 한국산 겨우살이 열매를 식품소재로서 적용함에 있어서 가장 일반적이고 간편한 물추출법으로 준비한 한국산 겨우살이 열매 물추출물 (KMF-WE)이 마우스 대식세포를 비특이적으로 활성화시켜 IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$  및 TNF- $\alpha$  등의 사이토카인과 RANTES, MCP-1, MIP-1 $\alpha$  및 MIP-1 $\beta$  등 chemokine의 생성을 유도하며, 이러한 면역활성 작용이 열매 민감하며 분자량 10,000 이상의 고분자 물질에 의해 매개된다는 점을 보고하였다<sup>22)</sup>. 본 연구에서는 KMF-WE의 면역활성 효과에 대한 연구의 연장선에서 항원 특이적인 체액성 및 세포성 면역반응에 대한 KMF-WE의 immunoadjuvant 효과에 대해 검토하였다.

본 연구 결과, KMF-WE를 KLH 항원과 혼합하여 면역한 마우스는 KLH 단독으로 면역한 마우스에 비해 KLH 특이 항체 생성이 유의하게 증가되었으며 (Fig. 1), 이는 KMF-WE가 항원 특이 체액성 면역반응 생성에 있어서 유용한 adjuvant로 작용할 수 있음을 시사하였다. 일반적으로 B 세포가 항원 특이적인 항체를 생산함에 있어서 주변의 보조

T 세포에서 생성되는 cytokine 들이 영향을 끼칠 수 있는데, IL-2 및 IFN- $\gamma$ 와 같은 Th-1 type cytokine들은 B 세포의 IgG2a 유형의 항체 생산을 촉진시키는 반면, IL-4와 IL-6 등의 Th-2-type cytokine들은 B세포가 IgG1을 분비하는 세포로의 분화 및 활성화를 도와주는 것으로 알려져 있다<sup>25)</sup>. 본 연구에서 KMF-WE와 혼합된 KLH로 면역시킨 마우스는 KLH 단독 면역군에 비해 IgG 1 및 IgG2a 유형의 항체 생산이 증가된 반면, IgM 유형은 KLH 단독군과 비슷한 수준을 유지함이 관찰되었다 (Fig. 3). 이는 KMF-WE가 KLH 특이 T 림프구를 활성화시켜 Th-1과 Th-2 모두 cytokine의 분비를 증가시키는 결과 (Fig. 5)와 일치하며, 따라서, KMF-WE는 KLH 항원 특이적인 면역반응을 유도함에 있어 Th1과 Th2 유형의 모두를 활성화시킬 수 있음을 의미한다 할 수 있다. 또한 KMF-WE와 혼합된 KLH로 면역시킨 마우스는 KLH 단독 면역군에 비해 *in vitro*에서 강력한 T 세포 증식을 유도하였을 뿐 아니라 (Fig. 4), *in vivo*에서도 T 세포에 의한 DTH 반응도 증가시키미 확인되었다 (Fig. 6). 이들 결과는 KMF-WE는 단백질 항원(KLH)에 특이적인 체액성 및 세포성 면역반응 모두를 강력히 유도할 수 있는 adjuvant임을 강력히 시사하였다.

이전의 보고와 본 연구의 결과를 종합하여 보면, 한국산 겨우살이 열매 물추출물인 KMF-WE는 항원제시세포의 하나인 대식세포를 비특이적으로 활성화하여 면역기능을 조절하는 사이토카인의 분비를 촉진하며, 또한 KMF-WE를 항원과 함께 투여한 경우에는 항원에 대한 특이적인 면역반응을 상승시키는 효과가 있는 것으로 밝혀졌다. 대식세포는 항원제시세포의 하나로서 이 세포의 활성화는 항원 특이적 면역기능을 담당하는 림프구의 면역작용을 상승시키게 된다. 그러므로 KMF-WE에 의한 항원 특이적인 면역반응의 증강효과에는 항원제시세포인 대식세포의 활성화가 관련되어 있을 것으로 추정된다.

한국산 겨우살이 잎과 줄기의 ammonium sulfate 침전 추출물 (KMF-110) 및 KMF-110에서 분리한 lectin 성분에 의해 매개되는 대식세포 활성화 효과와 immunoadjuvant 활성 등<sup>18,19)</sup> 지금까지 보고된 한국산 겨우살이에 의한 각종 면역활성 효과에 대한 연구 보고들과 유사한 면역활성 효과를 지니고 있음을 보여주었다. 하지만 본 연구의 결과만으로는 KMF-WE의 어떤 성분이 어떤 기전으로 이러한 강력한 항원 특이 면역활성 증강작용에 관여하는지에 대해서는 정확히 알 수 없으나, 단지 한국산 겨우살이 추출물의 면역증강활성에 있어서 가장 중요한 성분으로 간주되는 lectin의 함량을 측정된 결과, KMF-WE 내에도 lectin이 함유되어 있는 것으로 밝혀져 (data not shown), KMF-WE의 면역증강활성에는 lectin이 관여할 것으로 사료된다. 앞으로 KMF-WE의 여러 성분 중 항원 특이 항체 생성 및 림프구 활성화에 중요 역할을 담당하는 주 성분을 확인하고 분리하여 면역

활성 기전에 대한 연구를 심도있게 수행한다면 향후 KMF-WE의 면역증강제로서의 활용 가치에 대해서도 검토할 수 있을 것으로 사료된다.

## 결 론

한국산 겨우살이 열매 물추출물 (KMF-WE)을 이용하여 단백질항원 (KLH)에 대한 adjuvant 효과를 조사한 결과 다음의 결과를 얻었다. KMF-WE는 KLH항원과 함께 면역시킨 마우스의 항원 특이적인 체액성 면역반응을 활성화시켜 KLH-특이적인 IgG1과 IgG2a 항체 생성을 증가시켰다. 또한, KLH/KMF-WE 혼합액으로 면역한 마우스에서 KLH-특이적인 T 세포 증식능 및 Th-1 및 Th-2 유형의 cytokine 생성이 KLH 단독 면역군에 비해 현저히 증가됨을 관찰하였으며, *in vivo* DTH 반응도 유의하게 증가됨을 확인하여 KMF-WE가 KLH 특이적인 세포성 면역반응을 활성화 시킴을 관찰하였다. 따라서, KMF-WE가 단백질항원을 면역시킴에 있어 효과적인 immunoadjuvant로 작용할 수 있음을 확인하였다.

## 사 사

본 연구는 농림부 농림기술개발사업의 지원(2006년도-2008년도)에 의해 이루어진 것임. 또한 이 논문은 2008년도 건양대학교 명곡 학술연구비의 부분적 지원에 의하여 이루어진 것임.

## 인용문헌

- Bocci, V. (1993) Mistletoe (*Viscum album*) lectins as cytokine inducers and immunoadjuvant in tumor therapy. A review. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents* **7**: 1-6.
- Kuttan, G. and Vasudevan, D. M. (1988) Isolation and identification of a tumor reducing component from mistletoe extract (Iscaador). *Cancer Letters* **41**: 307-314.
- Schink, M. (1997) Mistletoe therapy for human cancer: the role of the natural killer cells. *Anti-Cancer Drug* **8** (Suppl.1): s47-s51.
- Blokosma, M., Schmiermann, P. and de Reuver, M., (1982) Stimulation of humoral and cellular immunity by *Viscum* preparations. *J. Med. Plant Res.* **46**: 2-8.
- Mueller, E. A., Hamprecht, K. and Anderer, F. A. (1989) Biological characterization of a component in extract of *Viscum album* enhancing human NK cytotoxicity. *Immunopharmacol.* **17**: 11-18.
- Mueller, E. A. and Anderer, F. A. (1990) Chemical specificity of effector cell/tumor cell bridging by a *Viscum album* rhamnogalacturonan enhancing cytotoxicity of human NK cell. *Immunopharmacol.* **19**: 69-77.
- Hajto, T., Hostanska, K. and Frei, K. (1990) Increased secretion of tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin 1, and interleukin 6 by human mononuclear cells exposed to b-galactoside lectin from clinically applied mistletoe extract. *Cancer Res.* **50**: 3322-3326.
- Kuttan, G. and Menon, L. G. (1996) Prevention of 20-methylcholanthrene-induced sarcoma by a mistletoe extract, Iscaador. *Carcinogenesis* **17**: 1107- 1109.
- Hajto, T., Hostanska, K. and Gabius, H-J. (1989) Modulatory potency of the  $\beta$ -galactoside-specific lectin from mistletoe extract (Iscaador) on the host defense system in vitro in rabbits and patients. *Cancer Res.* **49**: 4803-4808.
- Heiny, B. M. and Beuth, J. (1994) Mistletoe extract standardized for the galactoside-specific lectin (ML-I) induces  $\beta$ -endorphin release and immunopotential in breast cancer patients. *Anticancer Res.* **14**: 1339-1342.
- Stettin, A., Schultze, J. L., Stechemesser, E. and Berg, P. A. (1990) Anti-mistletoe lectin antibodies are produced in patients during therapy with an aqueous mistletoe extract derived from *Viscum album* Loranthaceae and neutralize lectin-induced cytotoxicity in vitro. *Klin. Wochenschr.* **68**: 896-900.
- Beuth, J., Ko, H. L., Gabius, H-J., Gurrichter, H., Oette, K. and Pulverer, G. (1992) Behavior of lymphocyte subsets and expression of activation markers in response to immunotherapy with galactoside-specific lectin from mistletoe in breast cancer patients. *Clin. Investig.* **70**: 658-661.
- Beuth, J. (1997) Clinical relevance of immunoactive mistletoe lectin-1. *Anti-Cancer Drug* **8** (Suppl. 1): s53-s55.
- Hajto, T., Hostanski, K., Fischer, J. and Saller, R. (1997) Immunomodulatory effects of *Viscum album* agglutinin-I on natural immunity. *Anti-Cancer Drug* **8** (Suppl.1): s43-s46.
- Khwaja G., Dias C. B. and Pentecost S. (1986) Recent studies on the antitumor activities of mistletoe (*Viscum album*) and its alkaloids. *Oncology* **43**: 42-50.
- Kuttan G., Vasudevan D. M. and Kuttan R. (1992) Tumour reducing activity of an isolated active ingredient from mistletoe extract and its possible mechanism of action. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* **11**: 7-2.
- Yoon, T. J., Yoo, Y. C., Kang, T. B., Shimazaki, K., Song, S. K., Lee, K. H., Kim, S. H., Park, C. H., Azuma, I. and Kim, J. B. (1999) Lectin isolated from Korean mistletoe (*Viscum album* var. *coloratum*) induced apoptosis in tumor cells. *Cancer Letters* **136**: 33-40.
- Yoon, T. J., Yoo, Y. C., Kang, T. B., Song, S. K., Lee, K. B., Her E., Song, K. S. and Kim, J. B. (2003) Antitumor activity of the Korean mistletoe lectin is attributed to activation of macrophages and NK cells. *Arch. Pharm. Res.* **26**: 861-867.
- Yoon, T. J., Yoo, Y. C., Kang, T. B., Her, E., Kim, S. H., Kim, G., Azuma, I. and Kim, J. B. (2001) Cellular and humoral adjuvant activity of lectins isolated from Korean mistletoe.

- Int. Immunopharmacol.* **1**: 881-889.
20. 최승영, 정신고, 김숙경, 유영춘, 이경복, 김종배, 김자영, 송경식. (2004) 한국산 겨우살이 (*Vicum album Coloratum*)로부터 분리한 homo-flavoyadorinin-B의 항산화 활성. *J. Korean Soc. Appl. Biol.Chem.* **47**: 279-282.
  21. 윤택준, 박성민, 양승훈, 정희윤, 이안나, 유영춘, 강태봉, 김종배. (2009) 한국산 겨우살이 추출물의 in vivo 독성 및 항종양 효과. *생약학회지* **40**: 205-212.
  22. 이정림, 전영하, 양효선, 이경복, 송경식, 강태봉, 김종배, 유영춘. (2010) 한국산 겨우살이 열매 추출물의 마우스 복강 대식세포 면역활성화 효과. *생약학회지* **41**: 122-129.
  23. Tamura, M., Yoo, Y. C., Yoshimatsu, K., Yoshida, R., Oka, T., Ohkuma, K., Arikawa, J. and Azuma, I. (1995) Effect of muramyl dipeptide derivatives as adjuvants on the induction of antibody response to recombinant hepatitis B surface antigen. *Vaccine* **13**: 77-82.
  24. Yoo, Y. C., Yoshimatsu, K., Koike, Y., Hatsuse, R., Yamishishi, K., Tanishita, O., Arikawa, J. and Azuma, I. (1998) Adjuvant activity of muramyl dipeptide derivatives to enhance immunogenicity of hantavirus-inactivated vaccine. *Vaccine* **16**: 216-24.
  25. Powrie, F. and Coffma, R. L. (1993) Cytokine regulation of T-cell function: potential for therapeutic intervention. *Immunol. Today* **14**: 270-274.
- (2010. 9. 2 접수; 2010. 10. 15 심사; 2010. 10. 20 게재확정)