

## Herpes Simplex Virus에 감염된 Mouse의 NK세포역할

가톨릭대학 의학부 미생물학교실

이 연 태\* · 이 종 훈

=Abstract=

### A Role of Natural Killer Cell in Mouse Infected Herpes Simplex Virus

Yun-Tai Lee and Chong-Hoon Lee

Department of Microbiology, Catholic Medical College, Seoul, Korea

A model of induction of neoplasia by viruses has developed from experimental studies in animals and in cultured cells and oncogenic transformation of cells is the result of integration of viral genetic information into the cellular DNA.

The evidence for these associations was derived primarily from seroepidemiologic investigation. However, data indicating that the relation between HSV-2 and cervical cancer fits the model derived from experimental animal studies are not yet sufficient to draw conclusion with regard to the etiologic role the virus in the development of the neoplasms.

In other hand, the K562 tumor cell is highly susceptible target for natural killer cell lysis by the lymphocytes of human and murine peripheral blood. The characteristics of this effector cell type has been investigated. A study on natural killer cell mediated cytotoxicity (NKMC) against  $^{51}\text{Cr}$ -K562 as target cell was studied in HSV-2 infected ICR mouse.

We have studied for susceptibility of HSV-2 against mouse embryo fibroblast (MEF) cells and NKMC from HSV-2 infected mouse.

The results obtained that the mouse embryo fibroblast cells culture, the number and size of the cells were markedly increased and formed a monolayers relatively rapid, and become complete monolayer sheaf around 72 hrs. Duration of cytopathic effect on MEF cells was rapid by serial passing of HSV-2. The morphology of the HSV-2 infected cells appear to be mainly round, ovium, spindle form and some of them was forming large giant cells.

The NKMC was decrease in mouse with HSV-2 and comparison between effector/target cells ratio as 25 : 1 and 50 : 1 respectively, the NKMC was found to be more significantly decreased than normal control. we have concluded that the natural killer cell activity of the viral infected mouse was shown as a suppressed during the HSV-2 infection, day 7th and 14th.

### 서 론

최근 면역학은 여러분야로 구분되어 매우 신속한 발전을 하고있는 실정이다.

그중에서도 세포성면역에 관한 연구는 더욱 많은 발

전을 하였다. 이와 같은 연구는 Cooper들(1966)<sup>1)</sup>에 의해서 말초혈액내 T임파구와 B임파구의 기능이 자세히 알려지게 되면서 더욱활기를 띠게 되었다.

그러나 종양면역에 관한 연구는 Hellström들(1967)<sup>2)</sup>이 polyoma에 대한 면역반응을 연구하던중 새로운 방법을 소개하게 되어 종양면역발전에 많은 공헌을 하게

본 연구는 1981년도 문교부 학술연구 보조비로 이루어졌음, 본 연재는 1981년 미생물학회 춘계 학술대회에서 발표된 것임. \* 현재 : 단국대학교 문리대 생물학과

되었다. 특히 종양항원에 감각된 임파구가 종양항원을 표면에 가지고 있는 종양세포를 파괴한다는 새로운 사실을 확인하게 된것은 이 방향의 연구에 크게 관심을 갖게 해 주었다<sup>2,3)</sup>.

그러나 이와 같은 종양면역에 관여하는 세포의 기능에 관하여 아직도 잘 알지 못하므로 앞으로 더욱 많은 연구가 요구되나 현재 T세포, antibody-dependent cell mediated cytotoxicity(이하 ADCC로 약함), natural killer cell mediated cytotoxicity(이하 NKMC로 약함) 및 거식세포의 면역기전에 대해서만 어느정도 알려져 있는 형편이다<sup>4,5)</sup>. 그러나 최근에 와서 NK 세포의 종양세포파괴능이 어느정도 알려지게 되자 이 방향의 연구에 많은 관심을 갖게 되었다. 이와 같은 NK 세포에 관한 연구는 종양면역을 추구하던 Rosenberg 들(1972), Herbergman(1973) 및 Skurzaka들(1973)이 세포독성실험을 하던중 우연하게도 정상임파구에 상의로 종양세포를 파괴하는 현상을 관찰함으로써 많은 사람들에게 큰 관심을 갖게 했다<sup>6,7,8)</sup>.

또 Takasaki들(1973)이 자기들의 실험을 통해서 정상인보다 암환자에 있어 NK세포의 활성이 현저하게 저하된다는 새로운 사실을 보고 함으로서 종양면역을 연구하는 학자들에게 큰 영향을 미치게 되었다<sup>9)</sup>. 따라서 근후 NK세포의 역할은 종양면역의 연구에 지대한 공헌을 하게 되었을 뿐만 아니라 각종의 감염성질환에 대해서도 방대한 연구를 시도하게 되었다. 그리고 현재는 NK세포의 특성 및 그 작용기전에 대해서 아직도 잘 모르는 점이 많아 계속 연구되어 그 기능이 점차 밝혀져 가고 있다<sup>4,10)</sup>.

그러나 이와 같은 현상은 종양환자뿐만 아니라 종양 바이러스에 감염된 동물에 있어서도 NK 활성이 감소하는 보고가 있게되자<sup>11-14,15)</sup> 이 방향의 연구도 많이 요구되고 있다.

따라서 본 연구는 오래전부터 *herpes simplex virus* 2형이 종양과 깊은 관련이 있을 것인지의 여부에 대해서는 아직 의문점이 있으므로 많은 연구가 요구되어 우선 기초실험으로 이와 같은 바이러스를 재료로 선택하여 우리의 실정에 알맞는 증식숙주를 개발하고, *herpes simplex virus* 2형을 감염받은 마우스에 있어 NK세포의 세포성면역반응을 추적하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 바이러스

*Herpes simplex virus* 2형(이하 HSV-2으로 약함)은 1980년 4월 일본 Kurumi대학 미생물학교실에서

분양받은 것을 본 교실에서 계대배양하여 사용했다.

### 2. 세포배양액

마우스태아세포배양용 배지는 RPMI 1640(BBL 회사)에 10% fetal calf serum (FCS), penicillin 100 units/ml 및 streptomycin 100r/ml을 첨가한후 pH7.2 로 수정하여 여과해서 사용했다.

### 3. 마우스태아 세포배양

임신한 ICR 마우스를 ether로 마취하여 복부를 개복한후 태아를 적출했다. 이 태아를 PBS(pH 7.2)로 3회 세척하여 내장, 다리, 두부를 제거했다. 그리고 잔여 세포를 PBS로 2회 세척한 후 잘게 절단하여 0.25%의 trypsin으로 30분간 소화시켰다. 상청액을 회수하여 1,000 rpm으로 10분간 원심하여 trypsin을 제거한후 세포배양액으로 이를 다시 부유시켜서 멸균된 2.5cm의 겹으로 여과하여 세포농도를  $4 \times 10^6$ /ml로 조정하였다. 이와 같이 조작한 세포를 Leighton 시험관에 2 ml씩 첨가하여 37°C의 CO<sub>2</sub> gas incubator에서 48시간 배양하여 monolayer를 형성한 세포를 본 실험에 사용했다.

### 4. 바이러스 감염

단층세포배양한 마우스태아세포를 PBS로 2회 세척하여 HSV-2를 시험관당 0.1 ml씩 감염시킨 후 37°C에서 60분간 감염시킨 후 PBS로 미흡착바이러스를 세척하여 제거했다. 그리고 maintenance medium (2% FCS 함유한 RPMI 1640)을 2ml씩 각시험관에 가하여 계속 36°C의 CO<sub>2</sub> gas incubator에서 배양하면서 도립현미경으로 CPE 형성여부를 관찰하여 사진촬영했다.

### 5. 자연살해세포 매개 세포파괴능 시험

#### 1) 바이러스 감염

15 gm의 ICR마우스(좌웅)에 LD<sub>50</sub> titer 10<sup>-7</sup>의 HSV-2를 복강내로 0.2 ml씩 주사하여 제 7일과 14일에 전체혈한 후 임파구를 분리하여 작동세포(effector cell)로 사용했다. 한편 정상대조군은 virus를 감염시키지 않은 건강한 마우스를 사용했다.

#### 2) Effector Cells

HSV-2를 감염시킨 마우스와 비감염 마우스로부터 혈액을 채취하여 Hank's BSS로 희석하여 Ficoll-Hypaque 층에 가하여 400g로 45분간 원심하여 임파구층을 회수했다. 이것을 한냉 Hank's BSS(pH7.2)로 3회 세척하여 effector cells로 사용했다.

이때 trypan blue dye exclusion 법으로 effector

cells의 생존율이 95% 이상인것을 확인했다.

### 3) Target cells

표적세포(target cells)는 Lozzio와 Lozzio(1975)<sup>15)</sup>가 단정골수성 백혈병환자의 늑막삼출액에서 분리한 K562 세포를 김동집교수가 미국의 김윤범교수 (Sloan Kettering Institute for Cancer)로부터 분양받은 것을 본 교실에서 계대배양하면서 이 실험에 이용했다. K562 세포배양액은 RPMI 1640 기본배지(Hepes buffer 포함)에 10% 우태아혈청을 가하여 penicillin 100units/ml과 streptomycin 100r/ml을 첨가 하여 pH 7.2로 조정한 것을 사용했다. 세포배양병은 Falcon plastic 조직배양병에 5 ml씩 가하여 CO<sub>2</sub> gas incubator에서 36~72시간 배양한 세포를 사용했다.

### 4) 세포파괴능의 검사

세포파괴능의 실험은 김들(1980)의 방법을 다소 변경한(김동집등, 1981) 방법을 사용했다<sup>5,16)</sup>. 즉 36~48시간 배양한 K562세포를 RPMI 1640배지와 함께 원침세척하여 세포농도가 필요로 조정된 세포 부유액 0.2 ml을 사용했다. 이 세포부유액에 sodium chromate (Na<sub>2</sub><sup>51</sup>CrO<sub>4</sub>) 150μCi를 가하여 사용했으며, target cell 1개당 1cpm이 label되도록 <sup>51</sup>Cr량을 증가 시켰다. 이와 같이 조작한 재료를 37°C에서 60분간 처리한후 한 병 Hank's BSS로 3회 세척했다. Target cells을 10<sup>4</sup>/0.1 ml가 되도록 RPMI 1640배양액에 재부유시켜서 round-bottom microplate(Limbro scientific No, 76-013-05, Handon, Conn)에 effector cells (25×10<sup>4</sup>/0.1ml, 50×10<sup>4</sup>/0.1ml)을 각각 동량첨가했다. 그리고 Well당 배양액의 총량이 0.2 ml되게 하고 effector cell 대 target cell의 비율이 각각 25:1과 50:1로 했다.

이와 같이 조작한 microplate를 3분간 흔들어서 세포를 잘 혼합시킨 후 37°C의 CO<sub>2</sub> gas incubator에서 4시간 반응시켰다. 그 후 plate를 4°C에서 15분간 원침한 후 상청액을 0.1 ml을 회수하여 자동방사능 측정기로 CPM을 측정했다.

그리고 모든 실험은 4배수로 실시했으며 NK cells mediated cytotoxicity의 %는 다음과 같은 식으로 계산했다.

% Specific release =

$$\frac{\text{mean cpm of experimental release} - \text{mean cpm of spontaneous release}}{\text{mean cpm of maximal release} - \text{mean cpm of spontaneous release}} \times 100$$

Maximal release는 전체 방사능 흡수량의 0%이상 이었고, Triton X-100 1%용액을 가해서 얻었다. Spontaneous release는 최고 유리의 10%이내였으며,

effector cell을 가하지 않고 배양액과 target cell만 가한 값을 구하였다.

## 실험 결과

### 1. 마우스태아 세포배양

우리의 실험에 알맞는 HSV-2의 증식용 세포를 개발하고자 우선 마우스태아조직의 시험관내 세포배양을 시도했다. 임신한 마우스로부터 태아를 적출하여 trypsin액으로 소화한 후 세포를 RPMI 1640 세포배양액(10% fetal calf serum 포함)에 부유시켰다. 이때 세포의 농도를 4×10<sup>6</sup>/ml이 되도록 조정하여 Leighton 시험관내에 2 ml씩 첨가해서 37°C의 gas incubator에서 세포를 배양하였다. 배양한세포는 24시간 후에는 Fig. 1과 같이 대부분이 섬유상의 세포로 아직충분한 세포단층을 형성하지 않았다. 그러나 72시간후에는 충분한 세포의 증식에 의해 단층세포를 형성하여(Fig. 2) 바이러스의 감염용으로 사용할수 있었다.

### 2. Herpes simplex virus의 감염

단층세포배양한 마우스태아세포에 Hank's BSS로 2회 세척하여 HSV-2를 각시험관에 0.1 ml씩 감염시켜서 37°C에서 60분간 흡착시켰다. 그후 미흡착한 바이러스를 제거할목적으로 Hank's BSS 2회 세척하여 2ml의 세포배양액(maintenance medium)을 첨가 해서 매일 도립현미경하에서 CPE의 출현여부를 관찰하였다. HSV-2에 감염된 마우스태아세포는 관찰기간 4일 이내에 CPE가 보이지 않았다. 그래서 바이러스-세포를 -85°C(Revco)에서 3회이상 동결용해시켜서 이를 새로이 준비한 단층세포에 감염시켰다. 이는 3대 계대 할때까지 세포병변을 관찰할수 없었다. 그래서 이를 반복계대(blind passage) 하였던바 제 4대 계대 이후부터 부분적으로 CPE를 보이기 시작하여 그후부터 반복계대한바 CPE의 출현시간이 48시간이내로 단축되어서(Fig. 3) 8대 계대후에는 Fig. 4와 같이 24시간 이내로 단축되는 특성을 보였다. 그리고 이 세포를 계속해서 항온기에 배양한바 감염후 제 4일에 Fig. 5와 같이 대형의 원형내지 타원형의 세포가 출현하였고 제 6일에는 Fig. 6과 같이 정상세포는 거의 찾아볼수 없고 다만 원형의 거대세포로 변한것만 볼수 있었다.

### 3. K562 세포배양

자연살해세포 매개세포파괴능(NKMC)의 활성시험에 사용되는 표적세포 K562세포의 시험관내의 증식성을 알아보도록 RPMI 1640세포배양액에 10%우태아혈

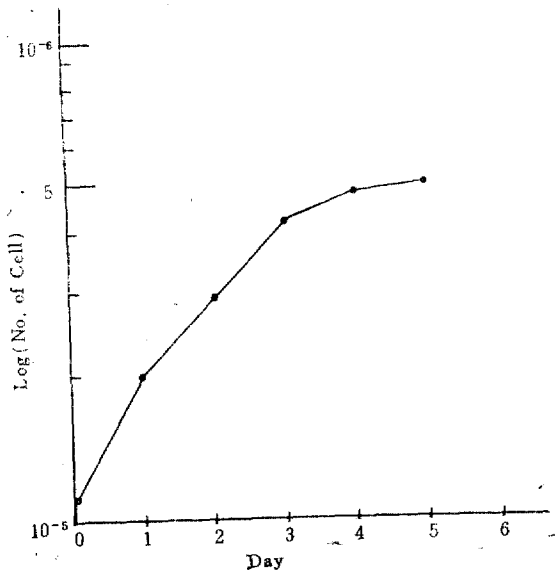


Fig. 8. Growth curve of K562 tumor cells in RPMI 1640 medium

청을 첨가하고 pH를 7.2로 조정하여 세포배양한다 Fig. 7과 같다. 계대배양한 세포의 증식성은 Fig. 8과 같이 5일까지 대수증식성을 보였다. 그리고 대부분의 세포 형태는 대, 소 원형의 건강한 세포들이었다.

#### 4. 자연살해세포매개 세포파괴능

15 gm의 마우스에 HSV-2를 감염시켜서 자연살해세포매개 세포파괴능을 알아보고서 HSV-2를 감염시킨후 제 7일과 14일에 마우스의 말초혈액을 채취하여 임파

**Table 1.** Natureal killer cell mediated cytotoxicity of herpes simplex virus type 2 infected mouse

|                | Day of test | Effector/target cells ratio |        |
|----------------|-------------|-----------------------------|--------|
|                |             | 1 : 25                      | 1 : 50 |
| HSV-2          | 7           | 0.84                        | 26.2   |
|                | 14          | 21.0                        | 32.0   |
| Normal control | 7           | 24.7                        | 38.7   |
|                | 14          | 25                          | 35.1   |

구를 분리하여 NK 세포활성을 조사한다 Table 1과 같다. 즉 HSV-2에 감염된 마우스의 NK활성은 정상 대조군보다 낮았다.

#### 고 안

*Herpes simplex virus* 2형이 여성자궁 경부암과 깊은 관계가 있으리라는 혈청학적근거는 종양바이러스를 연구하는 학자들에게 깊은 관심을 갖게했다<sup>17)</sup>. 그

러나 오늘날까지도 이점에 대해서는 아직도 뚜렷한 증거를 갖지 못한채 HSV-2의 종양관련성여부에 관해서 계속 연구를 진행하고 있는것이 오늘의 실정이다<sup>18),28)</sup>. HSV-2를 증식시키기 위한 감수성 세포주는 KB, RK, BHK, HeLa등의 세포들이다<sup>18)</sup>. 따라서 이와 같은 세포주에 HSV-2를 감염시키면 세포변성이 일어나서 종양 바이러스의 특징을 나타낸다<sup>20),26),29)</sup>. 그러나 본 실험에서 마우스태아 세포를 초대세포배양하여 HSV-2를 감염시켰던바 감염초기에는 세포에 아무런 변화를 볼수 없었으나 4대 계대 이후부터는 CPE가 출현하여 48시간으로 단축되었다. 그후 계속해서 계대배양한바 8대부터는 CPE의 출현시간이 더욱 단축되어 24시간으로 되었다. 그리고 바이러스에 감염된 세포도 대소의 타원형의 형태를 이루었으며, 시간이 경과하면서 대형세포(giant cell)로 변하여 HSV-2의 특유한 형태를 나타냈다. 따라서 본 실험결과를 통하여 마우스초대배양세포를 HSV-2의 숙주세포로 사용할 수 있었음을 확인 하였다. *Herpes virus* 속에 속하는 많은 종류의 바이러스가 시험관내에서 배양한 세포에 감염되면 대부분이 변형세포(transform cell)화하여 종양바이러스의 특징을 보여 준다<sup>20)</sup>.

본 실험에서도 HSV-2에 감염된 어떤 세포는 심한 세포병변(CPE)를 일으켜서 다른 종양성 바이러스와 일치되는 현상을 보여 주었다.

최근 세포성면역반응에 관한 지식이 날로 발전하게 되자 각종바이러스성 질환에 많은 관심을 갖게되었다. 그중에서도 HSV-2의 세포성면역반응에 대하여는 많은 이들이 특별한 흥미를 갖게 되어 이 방향의 연구를 하게 되었다<sup>20-23 24,26)</sup>.

특히 이와같은 연구는 Cooper들<sup>1)</sup>에 의해서 생체 말초혈액내의 T임파구와 B임파구의 기능이 알려지게되면서 T임파구의 세포성 면역반응, 특히 종양면역에 관한 많은 연구를 하게 되었다<sup>4),10)</sup>. 종양면역에 관한 주목할 만한 사실은 마우스 polyoma의 세포성면역에 관한 연구의 시초로<sup>2)</sup> 종양에 감염된 임파구의 생물학적 특징이 밝혀지면서 더욱 활발해졌다<sup>3)</sup>.

최근에 주로 많이 연구되고 있는 NK세포의 활성에 관해서 특히 많은 관심을 갖게 되었다<sup>4),5),10,30,31)</sup>.

Takasudi들이<sup>6)</sup> 정상인과 암환자에 대하여 말초혈액내에서 NK세포의 활성을 실험해본바 정상인보다 암환자의 NK활성이 현저하게 감소하는 새로운 사실을 확실히 하게 되자 각종 암환자에 대하여 이와 유사한 실험을 하게되었고<sup>13),19,25)</sup> 기타 사람 및 동물에 대해서도 자연살해 세포의 활성을 확인하게 되었다<sup>4),5),11,26,27)</sup>.

이와 같은 NK세포는 사전면역이 없이 자연적으로

종양세포를 살해할 수 있는 능력을 가진 임파구로서 그 기능상으로 면역학적 특성을 가진 세포독성 T세포와 구별되어 ADCC 반응을 일으키는 K세포와는 파괴반응에 특수항체의 관여가 없다는 점으로 구별된다고 했다.<sup>4,10)</sup> 그러나 NK세포가 종양세포를 파괴하는 데 있어 포적특수성, 생체내의 종양감시기전의 관여 여부 등에 대해서는 아직도 불확실한 점이 많다.<sup>4)</sup> 그러나 최근에 알려지고 있는 실험결과에 따르면 NK세포가 생체내 종양의 성장을 확실히 억제하고, 면역 감시기전에 매우 중대한 역할을 한다고 암시했다.<sup>30,31)</sup> 특히 Kiessling(1979)은 마우스의 말초혈액내의 NK세포에 대한 기능, 구조 및 생물학적 특징을 보고한바 있다.<sup>25)</sup> 따라서 급후 NK세포의 면역학적 기전에 관한 연구는 종양면역 연구에 희망을 주고 있으며 NK활성에 interferon이 미치는 영향에 관해서 많은 관심을 갖고 있다.<sup>12)</sup> 본 실험에서 HSV-2에 감염된 마우스의 NK활성은 정상대조군의 비감염마우스와 비교하여 현저하게 저하된 것을 관찰하였다. 따라서 HSV-2 감염에 의한 세포성 면역반응 특히 자연살해 세포능이 감소되었음을 확인했다. 그리고 급후 HSV-2 감염에 의한 interferon과 NK의 상호작용에 관해서 추적해 볼 필요가 있다.

## 결 론

*Herpes simplex virus* 2형이 여성의 자궁경부암과 깊은 관련이 있으리라는 생각은 많은 혈청학적 근거에 의해서 의심하게 되었으며 이와 같은 생각은 *herpes virus*과에 속하는 일부의 바이러스가 종양원성바이러스이기 때문이다.

따라서 필자들은 이와 같은 종양원성바이러스에 대한 숙주의 세포성면역반응에 흥미를 가지고 우선 우리 실험에 알맞는 HSV-2의 증식용세포주를 개발하고, 나아가서 HSV-2를 감염시킨 ICR마우스에 있어서 NK세포의 활성을 규명하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

즉 마우스태아세포를 RPMI 1640세포배양액에서 증식시킨 바 72시간이내에 세포단층을 형성하여 HSV-2의 감염용 세포로 사용할 수 있었다. HSV-2에 감염된 세포는 3대계대까지 CPE를 보이지 않았으나 4대계대후부터 순화되어 부분적인 CPE를 보였다. 그리고 HSV-2를 계속 동 세포에 계대한 바 CPE의 출현시간이 48시간으로 단축되었고 다시 계속 8대 계대한 바 CPE의 출현이 24시간 이내로 더욱 단축되었다.

HSV-2에 감염된 태아세포의 형태는 대소형의 원형 및 난원형으로 심하게 변화되었고, 특히 거대다핵세포가 많이 출현했다.

표적세포(K562 세포)는 10%의 우혈청을 함유한 RPMI 1640 배양액에서 증식이 양호하였고, 그 증식성은 계대후 5일까지 완전한 증식을 했으며 표적세포로 사용하는 K562세포는 배양 후 2~3일된 세포가 적합했다. HSV-2를 감염시킨 ICR마우스의 NK활성은 비감염 마우스보다 감소하였다.

본 실험중 내과 김춘추교수의 협조에 감사한다.

## REFERENCES

- 1) Cooper, M.D., Peterson, R.D.A., Soutj, M.A. and Good, R.A.: *The function of the thymus and bursa system in the chicken. J. Expt. Med.* 123 : 75, 1966.
- 2) Hellström, I.: *Int. J. Cancer*, 2 : 65, 1967.
- 3) Hellström, I., Hellström, K.E., Sjögren, H.D. and Warner, G.A.: *Int. J. Cancer*, 7 : 1, 1971.
- 4) Santoli, D. and Koprowski, H.: *Mechanisms of activation of human natural killer cells against tumor and virus infected cells. Immunol. Rev.* 44 : 125, 1979.
- 5) Kim Y. B., Huh, N.D., Koren, H.S. and Amos, B.: *Natural killing(NK) and antibody-dependent cellular cytotoxicity(ADCC) in specific pathogen-free(SPF) miniature swine and germ free piglets. I. Comparison of NK and ADCC. J. Immunol.* 125 : 755, 1980.
- 6) Rosenberg, E.B., Herberman, R.B., Levine, P.H., Halterman, R.H., Mecoy, J.C. and Wunderlich, J.P.: *Int. J. Cancer* 9 : 648, 1972.
- 7) Herberman, R.B. and Gaylord, C.E.: *Nat. Cancer Inst. Monogr.* 37, 1973.
- 8) Skurzaka, H.M., Steiner, D., Klein, E. and Lamon, E.W.: *Nat. cancer Inst. Monograph* 37 : 93, 1973.
- 9) Takasudi, M., Mickey, M.R. & Terasaki, P.I.: *Reactivity of lymphocytes from normal persons on cultured tumor cells. Cancer Res.* 33 : 2898, 1973.
- 10) 윤정구 : 종양과 NK세포에 대하여. *최신의학* 24 : 556, 1981.
- 11) Santoli, D., Trinchieri, G. and Lief, F.S.: *Cell mediated cytotoxicity against virus infected target cells in humans. I. Characteriza-*

- tion of the effector lymphocyte. *J. Immunol.* 121 : 526, 1978.
- 12) Santoli, D., Trinchieri, G. and Koprowski, H.: Cell mediated cytotoxicity in humans against virus-infected target cells. II. Interferon inducible and activation of natural killer cells. *J. Immunol.* 121 : 532, 1978.
- 13) Ault, and Weiner, H.L.: Natural killing of measles-infected cells by human lymphocytes. *J. Immunol.* 122 : 2611, 1979.
- 14) Kiessling, R., Klein, E, Pross, H. and Wigzell, H.: Natural killer cells in the mouse. II. cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells characteristics of the killer cells. *Eur. J. Immunol.* 5 : 117, 1975.
- 15) Lozzio, C.B. and Lozzio, B.B.: Human chronic myelogenous leukemia cell line with positive philadelphia chromosome. *Blood* 45 : 321, 1975.
- 16) 김동집, 김춘우, 한치화, 박종원, 김훈교, 김호연, 김원일, 이연태 : 암환자에서의 세포성 면역. II. 자연살해세포 매개세포파괴능의 변동, 대한내과학회, 24 : 461, 1981.
- 17) Adam, E., Kaufman, R.H., Melenick, J.L., Levy, A.H., and Rawls, W.E.: Seropidemiologic studies of herpes virus type 2 and carcinoma of the cervix. III. Houston, Texas, *Am. J. Epidemiology* 96 : 427, 1972.
- 18) Rawls, W.E. and Adam, E.: Herpes simplex viruses and human malignancies. pp:1133, 1977. Cited from Hiatt, H.H., Watson, J.D., and Winsten, J.A: *Origin of human cancer, Cold Spring Harbor Conference on cell proliferation, Volume 4 Book B.* 1977.
- 19) Becker, S. and Klein, E.: Decreased "natural killer" effect in tumor-bearing mice and its relation to the immunity against oncornavirus-determined cell surface antigens. *Eur. J. Immunol.* 6 : 892, 1976.
- 20) Daria, G., and Munk, K.: Human embryonic cells abortively infected with herpes virus hominis type 2 show some properties of cell transformation. *Nature (New Biol.)* 241 : 268, 1973.
- 21) Kirchner, H., Kleinicke, C. and Northoff, H.: Replication of herpes simplex virus in human peripheral T lymphocytes. *J. Gen. Virol.* 37 : 647, 1977.
- 22) Kirchner, H., Darai, G., Hirt, H.M., Klyessner, K.: In vitro mitogenic stimulation of murine spleen cell by herpes simplex virus. *J. Immunol.* 120 : 641, 1978.
- 23) Rager-Zisman, B. and Bloom, B.R.: Immunological destruction of herpes simplex virus I infected cells. *Nature* 251 : 542, 1974.
- 24) Notkins, A.L.(ed): *Viral immunology and immunopathology, New York, Academic press* 1975.
- 25) Kiessling, R. and Wigzell, H.: An analysis of the murine NK cell as to structure function and biological relevance. *Immunol. Rev.* 44 : 165, 1979.
- 26) Moller-Larsen, A., Heron, I and Hashr, S.: Cell-mediated Cytotoxicity to herpes infected cells in humans: dependence on antibodies. *Infect. Immun.* 16 : 43, 1977.
- 27) Cudkovicz, G. and Hechman, P.S.: Do natural killer cells engage in regulated reactions against self to ensure homeostasis?. *Immunol Rev.* 44 : 13, 1979.
- 28) Logic, W.E. Garfield, C.H., Seth, P. and Adam, E.: Serological considerations of the role of herpes simplex virus type 2 in cervical cancer, *Cancer Res.* 36 : 829, 1976.
- 29) Rawls, W.E., Iwamoto, K., Adam, E., Melenick, J.L. and Green, G. H.: Herpes simplex virus type 2 antibodies and carcinoma of the cervix. *Lancet* ii : 1142, 1970.
- 30) Brooks, C.G., Flannery, G.R., Cantrell, D.A., Gray, J.D., Robins, R.A. and Baldwin, R.W.: Rat NK cells active against lymphoma and sarcoma tumor cells are probably identical. *J. Immunol.* 128 : 913, 1982.
- 31) Herberman, R.B., Holden, H.T.: Natural Killer cell as antitumor effector cells. *J. Natl. Cancer Inst.* 64 : 441, 1979.

>> **Explanation of Figures** <<

**Fig. 1.** A mouse embryo fibroblast cells cultivated in vitro after 24 hrs (200X).

**Fig. 3.** A mouse embryonal cells was shown CPE after 48 hrs by HSV-2 (200X).

**Fig. 2.** A mouse embryonal cells formed monolayer after 72 hrs (200X).

**Fig. 4.** A mouse embryonal cells was shown CPE after 24 hrs by HSV-2.

>> **Explanation of Figures** <<

**Fig. 5.** A mouse embryonal cells was shown transformation after 4th days.

**Fig. 6.** A mouse embryonal cells was shown multigiant cells after 6th days.

**Fig. 7.** The morphology of K562 target cell cultured *in vitro* after 48 hrs (200X).