

한국산 겨우살이 (*Viscum album coloratum*)로부터 정제된 렉틴 성분 KML-IIU의 예비 독성 및 일반 약리 시험

강태봉 · 윤택준* · 김종배 · 송성규 · 이관희 · 박진환#
한동대학교 생물식품공학부, *경희대학교 동서의학대학원 중앙연구팀
(Received May 7, 2001; Revised May 29, 2001)

Preliminary Toxicity and General Pharmacology of KML-IIU, a Purified Lectin from Korean Mistletoe (*Viscum album coloratum*)

Tae Bong Kang, Taek Joon Yoon*, Jong Bae Kim, Seong Kyu Song,
Kwan Hee Lee and Jin-Hwan kwak#

School of Bioscience and Food Technology, Handong University, Pohang, Kyung-Buk 791-940, Korea
*Department of Oncology, Graduate School of East-West Medicine, Kyung Hee University, Korea

Abstract — The study was carried out to evaluate the preliminary toxicity and general pharmacology of KML-IIU, a purified lectin from Korean Mistletoe (*Viscum album coloratum*). KML-IIU was administered intravenously to ICR mice and Spargue-Dawley rats to investigate the acute toxicity. LD50 values in mice and rats were above 30 µg/kg. KML-IIU had no effects on the general behaviors, acetic acid induced writhing syndrome, pentobarbital induced sleeping time, pentylenetetrazole induced convulsion and the change of body temperature. In addition, KML-IIU did not show any effects on digestive system and blood coagulation system.

Keywords □ Korean Mistletoe, Lectin, KML-IIU, LD₅₀, General Pharmacology

천연물 유래 항암제의 일종인 Helixor[®], Isccador[®]는 유럽산 겨우살이 식물의 crude extract로서, 현재 독일 및 국내에서 항암제제로 시판 중에 있다. 겨우살이 추출물은 유럽 각지에서 민간요법으로 수백 년 간 고혈압, 동맥경화, 악성종양 등에 대한 치료제로서 사용되어온 경험이 있어 그 안정성이 이미 입증되었고, 동물과 인간을 대상으로 한 임상실험에서 암 환자의 생존율을 증가시키는 것으로 보고되어¹⁻³⁾ 이미 유럽의 약 400여개의 병원과 국내의 일부 병원에서도 암 치료의 목적으로 유럽산 겨우살이의 추출물을 임상에 사용하고 있다. 이러한 겨우살이 추출물의 항암 활성에 대해서는 지금까지 약 2,500여편 정도의 연구논문이 발표될 정도로 수많은 연구자들의 관심을 끌고 있다. 겨

우살이 추출물 내에서 이러한 세포독성 및 면역증강효과를 나타내는데 역할을 하는 활성물질들로는 60 kD 전후의 분자량을 지니는 단백질인 렉틴 (lectin)들과^{4,7)} 5,000 dalton 정도의 분자량을 지니는 polypeptide인 viscotoxin⁸⁻⁹⁾ 그리고 당류인 polysaccharide와 oligosaccharide¹⁰⁻¹¹⁾ 및 alkaloid¹²⁾ 등이 제시되었으며, 이 중에서도 렉틴이 항암 및 면역증진 활성의 주된 성분으로 인정되어 가장 집중적인 연구가 수행되어 왔다. 겨우살이 렉틴은 ricin이나 abrin과 마찬가지로 class II RIP(Ribosome Inactivating Protein)에 속하는 단백질로서 다양한 종양세포주에 대해서 apoptosis를 유도하여 강력한 독성효과를 지니는 물론 macrophage, NK cell 그리고 lymphocyte와 같은 면역담당세포들을 자극할 수 있는 면역증강효과를 지니고 있다. 즉 숙주의 면역능은 떨어뜨리지 않으면서 암세포에 독성효과를 가질 수 있기 때문에 기존의 화학요법제의 단점을 극

본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 054-260-1353 (팩스) 054-261-6705

복할 수 있다는 측면과 겨우살이 렉틴의 A 사슬을 이용한 immunotoxin의 항암 능력이 ricin보다 우수하다는 연구의 결과는¹³⁾ 겨우살이 추출물을 이용한 암 치료에 더욱 관심을 끌게 하고 있다. 지금까지 유럽산 겨우살이의 렉틴 성분에는 서로 다른 당 특이성을 지니는 3 가지의 isoform들이 존재하는 것으로 알려지고 있는데 galactose에 특이성을 지니는 ML-I, N-acetylgalactosamine에 특이성을 지니는 ML-III, 양쪽 당 모두에 결합하는 ML-II로 나누고 있다. 최근에 와서는 ML에 대한 구조적 특징이나 그 활성 기전을 규명하는데 많은 연구가 진행되고 있다. 그 결과로서 겨우살이 렉틴 ML-I의 각 사슬에 대한 완전한 아미노산 서열이 결정되었을 뿐 아니라,¹⁴⁾ X-ray를 통한 crystal structure가 규명되었으며,¹⁵⁾ Eck등에 의해서는 ML에 대한 각 사슬의 cloning이 이루어졌다.¹⁶⁾

한편, 최근에 들어서는 국내의 연구자들에 의해 한국산 겨우살이에 대한 연구도 활발하게 진행되고 있는데, 한국에서도 전통적으로 겨우살이가 통증의 완화, 고혈압, 유산방지, 관절염, 당뇨치료 등의 목적으로 한방과 민방에서 사용해 왔다는 점과 최근 국내에서도 전통약물에 대한 과학화를 시도하고 있다는 점에서 이는 대단히 고무적인 현상이다. 한국산 겨우살이에 대한 최초의 연구 결과는 Khwaja에 의해 보고되어졌다.¹⁷⁾ 특히 그 보고에서 한국산 겨우살이에는 종양세포에 대해 세포독성효과를 지니는 단백질이 존재하지 않지만 강력한 세포독성효과를 지니는 alkaloid가 존재한다고 보고하여, 렉틴이 존재하지 않을 가능성과 유럽산 겨우살이와 한국산 겨우살이의 성분이나 활성의 차이를 시사한 바 있다. 그러나 90년도 중반에 들어오면서 국내의 많은 연구진들에 의해 국내산 겨우살이에 대한 관심이 고조되고 그에 대한 연구가 활성화되면서, 한국산 겨우살이로부터 항암효과를 가진 렉틴이 분리되어 이전의 보고와는 달리 한국산 겨우살이에도 활성을 나타내는 렉틴이 존재함이 확인되었다.¹⁸⁻²¹⁾ 이들의 보고에 근거하면, 공통적으로 한국산 겨우살이 렉틴은 유럽산 겨우살이의 주 렉틴인 ML-I과 분자량이나 당 특이성에 있어 차이를 지니고 있으며 당 특이성만으로 고려할 때 ML-II와 유사성이 있는 것으로 말하고 있을 뿐, 그의 이화학적 특징에 대해서는 아직도 잘 밝혀져 있지 않은 실정이었다. 그러나 최근에 강, Yoon 등은 한국산 겨우살이로부터 각기 분자량이 다른 렉틴의 isoform들을 순수분리 정제하였으며, 이중

KML-IIU는 유럽산 렉틴과 서로 분자량이 다르고 또한 당특이성에서 차이를 갖는 새로운 물질로 밝혀졌다.²²⁾ 따라서 KML-IIU는 새로운 화학구조와 우수한 항암 효과로²²⁾ 인해 새로운 항암제의 개발 가능성이 매우 높을 것으로 기대된다.

본 연구에서는 우선 한국산 겨우살이의 단일 항암성분 KML-IIU에 대해서 실험동물에서 예비 독성 및 일반약리시험 등을 수행하여 새로운 항암제로서의 가능성을 확인하고자 하였다.

실험방법

시험물질 - 시험에 사용한 KML-IIU는 강원도에서 참나무를 숙주로 하여 자라는 겨우살이(*Viscum album*)로부터 분리 정제하였다. Yoon 등²¹⁾의 방법에 따라 겨우살이 잎, 줄기의 물 추출물로부터 얻은 ammonium sulfate(70%) 침전물을 hydrolyzed Sepharose 4B column 적용하여 렉틴 분획을 분리하였다. 분리된 렉틴 분획을 단일성분으로 정제를 위해 KML-IIU에만 특이성을 지니는 단일클론항체를 Sepharose에 conjugate한 column에 렉틴 분획을 적용하여 immuno-affinity chromatography를 통해 KML-IIU를 얻었으며, 이를 PBS buffer에서 3일간 투석한 뒤, BCA assay법에 따라 단백질을 정량하고, SDS-PAGE에서 순도를 확인하였다. 이를 -20°C에서 보관하였으며, 실험직전 멸균된 생리식염수액에 희석하여 사용하였다.

시험동물 및 사육환경 - 본 연구에 사용된 실험동물은 대한실험동물협회로부터 구입하여 1주일동안 실험동물실에서 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 동물실내(온도 20±3°C, 습도 50±10%)의 명암은 12 시간을 주기로 조절하였으며 사료는 실험동물용 고형사료(대한실험동물협회)를 섭취시켰으며, 물은 자외선으로 살균하고 정수 시킨 물을 자유로이 섭취시켰다.

시약 및 기구 - 본 연구에 사용된 buffer 제조용 시약 및 chromatography를 위한 일반시약들은 Merck사 혹은 Junsei사(Japan)로부터 구입하였으며, Sepharose 4B 및 pentylenetetrazole은 Sigma사로부터, 단일클론항체의 conjugation을 위한 NHS-activated Hitrap column은 Pharmacia Biotech사로부터, 단백질 정량을 위한 BCA assay kit은 Pierce사로부터 구입하였다. 한편, 체온 측정을 위한 직장체온계는 Yellow Springs Instruments사(U.S.A) 제품을 사용하였다.

생쥐에 대한 KML-IIU의 정맥 급성독성 - 각각 5마리의 절식시킨 수컷 ICR 생쥐에 체중 kg당 다섯 군의 서로 다른 용량으로 KML-IIU를 꼬리 정맥으로 1회 투여하였다. 시험물질은 생리식염수에 녹여 kg당 5 ml의 용량을 사용하였고, 대조군으로서 절식 생쥐에 생리식염수를 투여하였다. 투여 직후 및 시간별로 15일 간 시험 동물을 관찰하여 부작용 발현의 종류 및 빈도, 이상 여부, 치사율 등을 조사하였다. 모든 생존 동물은 15일째에 안락사 시킨 후 부검하여 이상 유무를 관찰하였다.²³⁾

흰쥐에 대한 KML-IIU의 정맥 급성독성 - 각각 5마리의 수컷 SD 흰쥐에 체중 kg당 세 군의 다른 용량으로 KML-IIU 용액을 정맥으로 1회 투여하였다. 시험물질은 생리식염수에 녹여 kg당 5 ml의 용량을 사용하였고, 또한 대조군으로서 암수 각각 5마리의 흰쥐에 생리식염수를 투여하였다. 투여 직후 및 15일 간 시간별로 시험 동물을 관찰하여 부작용 정도 및 이상 여부, 치사율 등을 조사하였다. 모든 생존동물은 15일째에 안락사 시킨 후 부검하여 이상 유무를 관찰하였다.

일반행동에 대한 KML-IIU의 영향 - 군 당 다섯 마리의 체중 23~25 g인 수컷 ICR 생쥐를 사용하여, 세 군의 서로 다른 농도로 KML-IIU를 꼬리 정맥으로 투여하였다. 시료를 시료 투여 전과 경구투여 후 각각 0.5 시간, 1 시간, 2 시간, 6 시간, 및 24 시간에서 행동(자발운동, 운동-영향반응, 감각-운동반응 등), 신경(자세, 근육강도, 균형 및 보행, 중추신경흥분) 및 자율신경(눈, 분비 및 배설) 등에 대한 효과를 Irwine의 방법에²⁴⁾ 따라서 관찰하였다.

중추신경계에 대한 KML-IIU의 영향

진통작용에 대한 영향 - 체중 20~25 g인 수컷 ICR 생쥐를 군당 5~7 마리씩 사용하여 KML-IIU 용액을 꼬리 정맥으로 투여하고, 15 분 후에 1% 초산용액을 10 ml/kg의 용량으로 복강 내로 투여하였다. 초산용액 투여 후 최초의 writhing 반응이 관찰되는 시간(onset time)을 기록하고, 3분 후부터 10분 동안 일어나는 writhing 횟수를 측정하였다.

수면시간에 미치는 영향 - 체중 20~25 g의 수컷 ICR 생쥐를 군당 10 마리씩 사용하여 KML-IIU 용액을 꼬리 정맥으로 투여한 후, 1시간 후에 70 mg/kg의 pentobarbital을 복강 내로 투여한다. pentobarbital 투여 후 정향반사의 소실 시점을 수면 시작으로 하여 회

복 시점까지를 수면시간으로 하였다.

경련에 대한 작용 - 체중 20~25 g의 수컷 ICR 생쥐를 군당 10 마리씩 사용하여 KML-IIU 용액을 꼬리 정맥으로 투여하고, 1 시간 후에 용량 65 mg/kg의 pentylenetetrazole을 복강 내에 투여하여 관찰되는 강직성 경련 발현 및 사망 유무를 측정하였다.²⁵⁾

정상체온에 미치는 영향 - 체중 20~25 g의 수컷 ICR 생쥐를 군당 5 마리씩 사용하여, KML-IIU 용액의 정맥 투여 전 및 투여 후 30, 60, 120, 240 분에 직장체온계를 사용하여 체온을 측정하였다.

소화기계에 대한 KML-IIU의 영향

생쥐의 장관 수송능에 대한 작용 - 체중 20~25 g의 수컷 ICR 생쥐를 군당 10 마리씩 사용하여, KML-IIU 용액을 정맥 투여하고, 1 시간 후에 charcoal meal (탄소말을 함유한 0.5% CMC)을 마리당 0.25 ml씩 경구투여하였다. 그리고 30분 후에 경추 탈골하여 치사시킨 후, 위장관을 적출하여 유문부에서부터 탄소말의 이동거리를 전장관 길이의 백분율로써 표시하였다.²⁶⁾

위액 분비에 미치는 영향 - 체중 250~300 g의 수컷 SD 흰쥐를 군당 4 마리씩 사용하여, KML-IIU 용액을 정맥 투여하고, 1시간 후에 위의 유문부를 결찰하였다. 결찰 4시간 후에 위를 적출하여 분비된 위액의 부피 및 pH를 측정하였다.

혈액응고계에 미치는 KML-IIU의 영향

체중 250~300 g의 수컷 SD 흰쥐를 군당 5 마리씩 사용하여, KML-IIU 용액을 정맥 투여하고 1시간 후에 심장으로부터 채혈하여 Simplastin(Organon Teknika Corporation) 및 Platelin LS(Organon Teknika Corporation) Kit를 사용하여 PT(Prothrombin time)과 aPTT(activated Partial Thromboplastin Time)를 각각 측정하였다.

결 과

KML-IIU의 예비 독성시험

생쥐에서의 정맥 급성독성 - 군당 5마리의 절식 생쥐에 체중 kg당 각각 250, 125, 62.5, 31, 15.5 µg/kg의 서로 다른 용량으로 KML-IIU를 1회 정맥 투여하였다. Table I의 결과에서처럼, 250 µg/kg의 투여군에서는 투여 후 하루만에 3마리가 사망하였고, 이

Table I – Mortality in mice administrated intravenously with KML-U

Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Days after treatment							Final mortality
	1	2	3	4	5	6	7	
250	3/5	5/5	0	0	0	0	0	5
125	1/5	5/5	0	0	0	0	0	5
62.5	0/5	2/5	2/5	2/5	3/5	3/5	3/5	3
31	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0
15.5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0

Table II – Mortality in rats administrated intravenously with KML-U

Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Days after treatment							Final mortality
	1	2	3	4	5	6	7	
100	5/5	0	0	0	0	0	0	5
50	0/5	2/5	0	0	0	0	0	2
25	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0
12.5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0

나머지 2 마리가 사망하였다. 125 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 투여군에서는 투여 후 24 시간 후에 1 마리가 사망하였고, 이틀째 4 마리가 모두 사망하였다. 62.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 투여군에서는 이틀째 두 마리가 사망하였고, 5 일째 1 마리가 사망하였다. 31 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 과 15.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 군에서는 사망한 동물이 한 마리도 없었다. 따라서 KML-IIU의 LD₅₀는 31 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 과 62.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 사이인 것으로 추정된다. 사망한 생쥐의 경우에는 IL-1, TNF- α 와 같은 cytokine의 대량 유도로 추정되는 발열 현상, 입모현상(piloerection) 등이 관찰되었고 눈에서 진물이 많이 분비되었지만, 생존한 동물에서는 별다른 임상적 이상이 발견되지 않았다.

Rat에 대한 독성시험 – KML-IIU를 각각 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 12.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 농도로 꼬리 정맥으로 1회 투여한 뒤 대조군(0.9% 생리식염수)과 비교한 결과, 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 에서는 1일만에 5마리 모두가 사망하였으며, 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 에서는 5마리 중 2마리가 2일째에 사망하였고, 그 이하의 농도에서는 14일까지 사망이 확인되지 않았다. 따라서 흰쥐에 있어서의 KML-IIU에 대한 LD₅₀(Lethal Dose)은 50~100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 인 것으로 사료되었다(Table II).

KML-IIU의 일반약리시험

일반 행동에 미치는 영향 – KML-IIU를 각각 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 용량으로 수컷 ICR생쥐에 정맥주사하고 15분, 2시간, 6시간, 12시간, 24시간, 48

시간 후에 Irwin의 다차원 관찰법을 변형하여 일반행동 변화, 신경증상 및 중독증상을 관찰하였다, KML-IIU를 투여한 군과 생리식염수를 투여한 대조군을 비교한 결과, 특별한 일반 행동상의 변화가 관찰되지 않았으며 신경증상 및 중독증상도 관찰되지 않았다.

중추신경계에 미치는 영향

진통작용에 미치는 영향 – 체중 20~25 g의 수컷 ICR 생쥐에 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 용량의 KML-IIU 용액을 정맥 주사하고, 15분 후에 1% 초산용액을 10 ml/kg의 용량으로 복강 내로 투여하여 3분 후부터 10분간 writhing를 관찰한 결과, Table III에서처럼 음성 대조군에 비해 진통반응 횟수에서 유의성 있는 변화($p < 0.05$)가 관찰되지 않았다.

수면시간에 미치는 영향 – Pentobarbital의 수면 효과에 미치는 KML-IIU의 영향을 살펴보기 위해, 수컷 ICR 생쥐에 각각 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 용량

Table III – Effect of KML-IIU on writhing Syndrome Induced by Acetic Acid

Drug	Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	No. of animals	Writhing
Control	0.9% Saline	6	27.8 \pm 5
	20	7	23.7 \pm 3
KML-IIU	10	5	23.0 \pm 8
	1	7	28.0 \pm 5

All data represent the mean \pm S.D.

Table IV – Effect of KML-IIU on pentobarbital-induced sleeping time in mice

Drug	Dose (µg/kg)	No. of animals	Mean (min) ± SD
Control	0.9% Saline	9	70.4 ± 22.5
	20	10	64.6 ± 23.3
KML-IIU	10	10	74.5 ± 24.0
	1	10	79.7 ± 24.4

All data represent the mean ± S.D.

Table V – Effect of KML-IIU on convulsion induced by pentylenetetrazole

Drug	Dose (µg/kg)	No. of animals	Convulsion		Mortality
			Clonic	Tonic	
Control	0.9% Saline	10	10	6	6
	20	9	9	5	5
KML-IIU	10	9	9	7	7
	1	10	10	9	8

의 KML-IIU 용액을 pentobarbital과 병용 투여하였다. Pentobarbital에 의해 유도되는 수면 시간 연장 효과를 대조군과 비교 실험한 결과, Table IV에서 처럼 KML-IIU는 pentobarbital에 의한 수면시간에 유의성 있는($p < 0.05$) 영향을 주지 않으므로, 두 약물간의 약물 상호 작용이 없음을 알 수 있었다.

경련에 대한 작용 – ICR 생쥐에 각각 20 µg/kg, 10 µg/kg, 1 µg/kg 용량의 KML-IIU 용액을 정맥 주사하고, 15분 후에 용량 65 mg/kg의 pentylenetetrazole을 복강 내에 투여한 뒤, 관찰되는 강직성 경련 발현 및 사망 여부를 대조군과 비교하였다. Table V에서처럼 KML-IIU는 생쥐에서 경련 작용을 유발하지 않았다.

정상체온에 대한 작용시험 – 수컷 SD 흰쥐에 각각 20 µg/kg, 10 µg/kg, 1 µg/kg 용량의 KML-IIU 용액을 정맥 주사하고, 직장체온계를 이용하여 흰쥐의 체온을 30분 간격으로 3회 측정된 결과, Table VI에서 처럼 KML-IIU는 대조군과 비교하였을 때 유의성 있

Table VI – Effect of KML-IIU on body temperature in mice

Drug	Dose (µg/kg)	No. of animals	Time (min)					
			0	15	30	60	120	240
Control	0.9% Saline	5	36.67 ± 0.4	36.24 ± 0.3	36.31 ± 0.38	36.45 ± 0.1	36.8 ± 0.4	36 ± 0.4
	20	5	36.73 ± 0.4	35.97 ± 0.5	36.18 ± 0.4	35.95 ± 0.4	36.15 ± 0.3	36.15 ± 0.2
KML-IIU	10	5	36.83 ± 0.5	36.16 ± 0.2	36.55 ± 0.4	36.7 ± 0.1	36.95 ± 0.29	36.35 ± 0.2
	1	5	36.78 ± 0.35	36.79 ± 0.2	36.75 ± 0.2	36.75 ± 0.2	36.4 ± 0.3	36.45 ± 0.24

All data represent the mean ± S.D.

Table VII – Effect of KML-IIU on intestinal propulsion in mice

Drug	Dose (µg/kg)	No. of animals	Propulsion (%)
Control	0.9% Saline	10	60.0 ± 10
	20	9	54.0 ± 10
KML-IIU	10	10	55.0 ± 10
	1	10	60.0 ± 10

All data represent the mean ± S.D.

는 체온의 변화를 유도하지 않았다($p < 0.05$).

소화기계에 미치는 영향

장관수송능에 대한 영향 – 24시간 절식시킨 수컷 ICR 생쥐를 사용하여 KML-IIU를 각각 20 µg/kg, 10 µg/kg, 1 µg/kg 용량으로 정맥을 통해 투여한 후, 위장관을 적출하여 유분무로부터 맹장입구까지의 이송율을 대조군과 비교 측정된 결과, Table VII에서처럼 KML-IIU는 고농도에서도 장관수송능에 대해 유의성 있는 영향($p < 0.05$)을 미치지 않았다.

위액분비에 미치는 영향 – 각각 20 µg/kg, 10 µg/kg, 1 µg/kg 용량의 KML-IIU 용액을 정맥주사하고 4 시간 후에 위액을 채취하여 위액의 양과 pH를 대조군과 비교 조사한 결과, KML-IIU는 Table VIII에서처럼 어떠한 투여 농도에서도 통계적으로 유의성 있는 변화($p < 0.05$)를 보여 주지 않았다.

혈액응고계에 미치는 영향 – 수컷 SD 흰쥐에 각각

Table VIII – Effect of KML-IIU on gastric secretion in rats

Drug	Dose (µg/kg)	No. of animals	pH	Volumn (ml)
Control	0.9% Saline	4	2.2 ± 0.25	8.75 ± 1.37
	20	3	2.0 ± 0.47	11.0 ± 1.66
KML-IIU	10	4	2.0 ± 0.09	9.2 ± 0.43
	1	4	2.4 ± 0.29	2.4 ± 0.29

All data represent the mean ± S.D.

Table IX - Effect of KML-IIU on blood coagulation system in rats

Drug	Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	No. of animals	Prothrombin time (min)	aPTT (min)
Control	0.9% Saline	5	10.88 \pm 1.60	17.14 \pm 0.83
	20	5	11.80 \pm 0.56	17.20 \pm 1.30
KML-IIU	10	5	11.74 \pm 0.90	17.60 \pm 2.00
	1	5	12.12 \pm 0.70	16.96 \pm 0.97

All data represent the mean \pm S.D.

20 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 용량의 KML-IIU 용액을 정맥 주사하고, 15분 후에 심장으로부터 채혈하여 PT(Prothrombin time)과 aPTT(activated Partial Thromboplastin Time)를 각각 측정된 결과, Table IX에서 처럼 KML-IIU는 어느 농도에서도 PT time과 aPTT time에 유의성 있는 영향을 주지 않았다 ($p < 0.05$).

고찰 및 결론

한국산 겨우살이의 단일 항암 성분인 KML-IIU는 유럽산 겨우살이의 렉틴 성분과는 분자량에서 상이하고 또한 당 특이성에서도 차이를 보이는 새로운 성분으로서, 시험관 내에서 우수한 세포 독성 활성을 갖고 있다. 따라서 본 연구에서는 새로운 항암제로서의 가능성이 매우 높은 KML-IIU에 대해 생쥐와 흰쥐에서 기초 예비 독성을 수행하여 개략적인 LD₅₀ 값을 추정하였으며, 이 실험 결과로부터 LD₅₀ 값의 1/2 수준인 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 그리고 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 농도에서 일반 약리시험을 수행하였다. KML-IIU는 이 농도에서 일반 행동 및 중추신경계, 소화기계, 혈액응고계 등에 대해서 유의성 있는 영향을 주지 않는($p < 0.05$) 안전한 물질임을 보여 주었다.

감사의 말씀

본 연구는 보건복지부 보건의료기술연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것임(HMP-97-D-4-0025).

문헌

- Hajto, T., Hostanska, K., and Gabius, H. J. : Modulatory potency of the beta-galactoside-specific lectin from mistletoe extract (Iscador) on the host defense system in vivo in rabbits and patients. *Cancer Res.* **49**, 4803 (1989).
- Heiny, B. M., and Beuth, J. : Mistletoe extract standardized for the galactoside-specific lectin (ML-1) induces beta-endorphin release and immuno-potential in breast cancer patients. *Anticancer Res.* **14**, 1339 (1994).
- Schultze, J. L., Stettin, A., and Berg, P. A. : Demonstration of specifically sensitized lymphocytes in patients treated with an aqueous mistletoe extract (*Viscum album L.*). *Klin. Wochenschr.* **69**, 397 (1991).
- Franz, H., Ziska, P., Kindt, A. : Isolation and properties of three lectins from mistletoe (*Viscum album L.*). *Biochem. J.* **195**, 481 (1981).
- Olsnes, S., Stirpe, F., Sandvig, K., Pihl, A. : Isolation and characterization of viscumin, a toxic lectin from *Viscum album L.* (mistletoe). *J. Biol. Chem.* **257**, 13263 (1982).
- Holtskog, R., Sandvig, K., Olsnes, S. : Characterization of a toxic lectin in Iscador, a mistletoe preparation with alleged cancerostatic properties. *Oncology* **45**, 172 (1988).
- Lee R. T., Gabius H. J., Lee Y. C. : Ligand binding characteristics of the major mistletoe lectin. *J. Biol. Chem.* **267**, 23722 (1992).
- Konopa, J., Woynarowski, J. M., and Lewandowska-Gumieniak, M. : Isolation of viscotoxins. Cytotoxic basic polypeptides from *Viscum album L.* *Hoppe-Seylers. Z. Physiol. Chem.* **361**, 1525 (1980).
- Schrader, G., Apel, K. : Isolation and characterization of cDNAs encoding viscotoxins of mistletoe (*Viscum album*). *Eur. J. Biochem.* **198**, 549 (1991).
- Jordan, E., and Wagner, H. : Structure and properties of polysaccharides from *Viscum album(L.)*. *Oncology* **43**(Suppl 1), 8 (1986).
- Mueller, E. A., Anderer, F. A. : A *Viscum album* oligosaccharide activating human natural cytotoxicity is

- an interferon gamma inducer. *Cancer Immunol. Immunother.* **32**, 221 (1990).
- 12) Khwaja, T. A., Dias, C. B. and Pentecost, S. : Recent studies on the anticancer activities of mistletoe (*Viscum album*) and its alkaloids. *Oncology.* **43**(Suppl 1), 42 (1986).
 - 13) Tonevitsky, A. G., Agapov, I. I., Shamshiev, A. T., Temyakov, D. E., Pohl, P. and Kirpichnikov, M. P. : Immunotoxins containing A-chain of mistletoe lectin I are more active than immunotoxins with ricin A-chain. *FEBS Lett.* **392**, 166 (1996).
 - 14) Soler, M. H., Stoeva, S., Schwamborn, C., Wilhelm, S., Stiefel, T. and Voelter, W. : Complete amino acid sequence of the A chain of mistletoe lectin I. *FEBS Lett.* **399**, 153 (1996).
 - 15) Krauspenhaar, R., Eschenburg, S., Perbandt, M., Kornilov, V., Konareva, N., Stoeva S, Wacker, R., Maier, T., Singh, T., Mikhailov, A., Voelter, W. and Betzel, C. : Crystal structure of mistletoe lectin I from *Viscum album*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **257**, 418 (1999).
 - 16) Eck, J., Langer, M., Mockel, B., Baur, A., Rothe, M., Zinke, H. and Lentzen, H. : Cloning of the mistletoe lectin gene and characterization of the recombinant A-chain. *Eur. J. Biochem.* **264**, 775 (1999).
 - 17) Khwaja, T. A., Varven, J. C., Pentecost, S. and Pande, H. : Isolation of biologically active alkaloids from Korean mistletoe *Viscum album*. *Experientia* **36**, 599 (1980).
 - 18) Park J. H., Hyun C. K., Shin H. K. : Cytotoxicity of heat-treated Korean mistletoe. *Cancer Lett.* **126**, 43 (1998).
 - 19) Park J. H., Hyun C. K., Shin H. K. : Cytotoxic effects of the components in heat-treated mistletoe (*Viscum album*). *Cancer Lett.* **139**, 207 (1999).
 - 20) Lee H. S., Kim Y. S., Kim S. B., Choi B. E., Woo B. H. and Lee, K. C. : Isolation and characterization of biologically active lectin from Korean mistletoe, *Viscum album* var. *Coloratum*. *Cell. Mol. Life Sci.* **55**, 679 (1999).
 - 21) 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. : Lectins isolated from Korean mistletoe (*Viscum album coloratum*) induce apoptosis in tumor cells. *Cancer Lett.* **136**, 33 (1999).
 - 22) Kang, T. B. : The physicochemical characterization and the mechanism of biological activity of lectins from Korean mistletoe (*Viscum album coloratum*). Ph.D. Thesis (2000).
 - 23) Rosiello, A. P., Essigmann, J. M. and Wogan, G. N. : Rapid and accurate determination of the median lethal dose (LD₅₀) and its error with a small computer. *J. Toxicol. Environ. Health* **3**, 797 (1977).
 - 24) Irwin, S. : Comprehensive observational assessment. A systemic quantitative procedure for assessing the behavioral physiologic state of the mouse. *Psychopharmacologia* **12**, 222 (1968).
 - 25) Williams, P. D., Bennett, D. and Comereski, C. R. Animal model for evaluating the convulsive liability of beta-lactam antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother.* **32**, 758 (1988).
 - 26) Takemori, A. E., Kupferberg, H. T. and Miller, J. W. : Quantitative studies of the antagonism of morphine by nalorphine and naloxone. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **169**, 39 (1969).