

율무가 백혈병세포주인 L1210 세포의 증식에 미치는 영향

이동희 · 전용근 · 은재순*

우석대학교 약학대학

Effect of the Seeds of *Coix Lachryma-Jobi* L. var. *Ma-yuen* Stapf. on the Proliferation of L1210 cells, a Leukemic cell-lines

Dong Hee Lee, Yong Geun Jeon, Jae Soon Eun*

College of Pharmacy, Woosuk University

The purpose of this research was to investigate the effects of *Coix Lachryma-Jobi* L. var. *Ma-yuen* Stapf. on the proliferation of L1210 cells and immune cells. The hexane fraction of *Coix Lachryma-Jobi* decreased the proliferation of L1210 cells and induced DNA fragmentation of L1210 cells. Also, the fraction decreased the cell viability of murine thymocytes and splenocytes, but increased the phagocytic activity of murine peritoneal macrophages. In addition, fatty acids and fatty acid methyl esters decreased the proliferation of L1210 cells and induced DNA fragmentation of L1210 cells. The main components of the fraction are fatty acid and their derivatives. These results indicate that *Coix Lachryma-Jobi* has a cytotoxicity on tumor cells and immune cells.

Key words : *Coix Lachryma-Jobi*, L1210 cells, thymocytes, splenocytes, macrophages

서 론

율무 (*Coix lachryma-jobi* Linne var. *ma-yuen* Stapf.)는 Gramineae (벼과)에 속하는 1년생 초본 식물로서, 원산지는 동남아시아 지역의 열대 지방으로 인도, 원남, 필리핀 등으로 알려져 있고, 현재는 우리나라, 일본, 중국 및 동남아시아에서 주로 재배되고 있다¹⁾.

율무 열매의 껍질을 제거한 알맹이를 의이인이라고도 하며, 민간에서는 율무죽 및 율무차 등으로 식용하며, 한방에서는 소염, 이뇨, 배농 등에 사용하여 왔다²⁾.

율무에 함유된 성분으로는 전분, 조단백질, 지방유, coixenolide, coixol 등이 보고되었으며¹⁾, 약리작용으로는 진통작용³⁾, cytotoxic T 세포 및 NK 세포의 증가작용^{4,5)}, 항암작용⁶⁻⁸⁾ 등이 있음이 보고되었다. 이들 중 항돌연변이 및 항암작용을 나타내는 성분으로는 coixenolide⁶⁾, α-monolinolein⁹⁾, fatty acids^{10,11)}, polyphenols, ellagic acid¹²⁾ 등이 알려져 있다.

본 연구자들은 율무의 암세포에 대한 세포독성을 확인하고자

실험하였으며, 율무 hexane 분획과 hexane 분획에 함유되어 있는 주성분인 fatty acids 및 그 유도체들과 세포독성을 비교한 결과 약간의 지견을 얻었기에 이에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 시약 및 기기

실험에 사용한 시약은 MTT, palmitic acid, stearic acid, linoleic acid, linoleic acid, oleic acid, arachidonic acid, palmitic acid methyl ester, stearic acid methyl ester, linoleic acid methyl ester, linolenic acid methyl ester, oleic acid methyl ester, arachidonic acid methyl ester, propidium iodide는 Sigma Co., RPMI 1640, fetal bovine serum (FBS)은 Gibco Co., 기타 시약은 cell culture용 및 1급 시약을 구입하여 사용하였다. 사용기기는 microplate-reader (Dynatech MR5000), CO₂ incubator (Vision scientific Co.), inverted microscope (Nikon Co.), flow cytometer (Coulter EPICS-XL) 등을 사용하였다.

2. 검액의 조제

본 실험에 사용한 율무는 시중에서 국산을 구입하여 사용하

* 교신저자 : 은재순, 전북 완주군 삼례읍 후정리 490, 우석대학교 약학대학

· E-mail : jseun@mail.woosuk.ac.kr, · Tel : 063-290-1569

· 접수 : 2005/03/18 · 수정 : 2005/04/20 · 채택 : 2005/05/24

였으며, 울무 1 kg을 methanol 3 L로 실온에서 24 시간씩 3회 추출한 후 여과하여 여액을 모아 rotary evaporator로 감압농축한 다음 동결건조 하였다. 분말을 hexane 및 ethylacetate로 계통분획을 실시하여 실험에 사용하였다.

3. 세포증식능 측정

L1210 세포의 세포증식능은 Mosmann¹³⁾이 개발하여 Kotnik¹⁴⁾ 등이 변형시킨 MTT법을 사용하였다. 즉, 96-well plate에 L1210 세포를 2×10^5 cells/ml로 조제하여 각 well에 100 μ l 씩 분주하고 sample을 다양한 농도로 희석하여 첨가한 후 37 °C의 CO₂ incubator에서 48 시간 동안 배양하였다. 배양 후 5 mg/ml 농도로 PBS에 희석된 MTT용액 20 μ l를 각 well에 첨가하고 은박지로 빛을 차단한 다음, 4 시간 후에 10% SDS (in 0.01N-HCl) 100 μ l를 첨가하여 18 시간 동안 배양하였다. 발색된 각 well의 흡광도를 microplate-reader를 이용하여 570 nm에서 측정하고 대조군의 흡광도와 비교하여 세포생존율을 백분율로 환산하였다.

4. DNA fragmentation의 측정

L1210 세포를 5×10^5 cells/ml로 조제하여 각 well에 100 μ l 씩 분주하고 sample을 다양한 농도로 희석하여 첨가한 후 48 시간 배양하였다. 배양후 세포를 원심분리한 후, PI buffer(0.1% Na-Citrate + 0.2% Triton X-100)에 용해시킨 propidium iodide(10 μ g/ml) 20 μ l를 넣어 4°C에서 30분간 염색한 후, flow cytometer로 DNA fragmentation(sub-G1 peak)를 측정하였다¹⁵⁾.

5. 생쥐 thymocytes 및 splenocytes의 분리 및 세포생존율 측정

생쥐 (C57BL/6)의 thymocytes 및 splenocytes 분리는 Wysocki¹⁶⁾ 및 Mizel¹⁷⁾ 등의 방법을 이용하였다. 생쥐를 경추탈골하여 도살한 후 적출한 흉선 및 비장을 DPBS-A를 넣은 petri dish에서 잘게 분쇄하고 멸균된 stainless mesh로 여과하여 세포 부유액을 얻어 실험에 사용하였다. 96-well plate에 분리한 thymocytes 및 splenocytes를 1×10^7 cells/ml로 조제하여 각 well에 100 μ l 씩 분주하고 sample을 다양한 농도로 희석하여 첨가한 후 37 °C의 CO₂ incubator에서 48 시간 동안 배양하였다. 배양 후 5 mg/ml 농도로 PBS에 희석된 MTT용액 20 μ l를 각 well에 첨가하고 은박지로 빛을 차단한 다음, 4 시간 후에 10% SDS (in 0.01N-HCl) 100 μ l를 첨가하여 18 시간 동안 배양하였다. 발색된 각 well의 흡광도를 microplate-reader를 이용하여 570 nm에서 측정하고 대조군의 흡광도와 비교하여 세포생존율을 백분율로 환산하였다. 배지는 RPMI 1640 배지를 사용하였으며, 배지에는 10% FBS와 penicillin-streptomycin (100 units/ml, 100 μ g/ml)을 첨가하여 사용하였다.

6. 복강 macrophage로부터 phagocytic activity 측정

평균한 3% thioglycollate 2 ml를 복강에 투여하고, 3일 후에 생쥐를 경추탈골하여 도살한 후 cold-PBS 10 ml를 복강에 주입하여 복강세포를 수집하여 RPMI 1640 배지로 2회 세척한 후, 직

경 120 mm petri dish에 분주하여 CO₂ incubator에서 2시간 배양 후 부착되지 않은 세포를 제거하고 부착한 세포만을 cell scraper로 모아 macrophage로 사용하였다. Lucigenin 용액의 제조는 DPBS-A에 용해하여 사용하였으며, chemiluminescence 측정기는 luminometer를 이용하여 37 °C에서 측정하였다^{18,19)}. 측정용 microplate(white)에 분리한 macrophage 부유액 50 μ l에 sample을 첨가하여 30분 배양한 후 lucigenin 용액 50 μ l 및 zymosan 용액 30 μ l를 첨가하고 37 °C에서 15분간 전처리한 다음 5분 간격으로 30분 동안 lucigenin chemiluminescence 양을 측정하였다.

7. 통계처리

모든 실험 결과들은 mean \pm SE로 나타내었고 통계처리는 Student's *t*-test를 실시하여 p<0.05를 기준으로 유의성 여부를 판정하였다.

실험성적

1. 울무 MeOH extract의 용매 분획

울무 1 kg을 MeOH로 24 시간씩 3회 추출하고 여과하여 여액을 모아 동결건조한 결과 분말 15.3g을 얻었다. 이를 hexane 및 ethylacetate로 계통분획을 실시한 결과는 Table 1과 같다.

Table 1. The yield of solvent fraction of *Coix Lachryma-Jobi* MeOH extract

Solvent fraction	Yield (g)
MeOH extract	15.3
Hexane fraction	5.3
Ethylacetate fraction	0.1
H ₂ O fraction	6.6

2. 울무 hexane 분획이 L1210 세포의 세포생존율에 미치는 효과

L1210 세포에 대한 울무 MeOH extract의 IC₅₀은 688.6 μ g/ml이었다 (Fig. 1). 울무 MeOH extract를 hexane, ethylacetate 및 H₂O로 분획하여 L1210 세포에 대한 세포생존율을 측정할 결과 hexane 분획에서 세포독성이 강력하게 나타났다. 따라서 L1210 세포에 대하여 hexane 분획을 각 농도별로 희석하여 세포독성을 측정할 결과 IC₅₀은 84.1 μ g/ml 이었다 (Fig. 2).

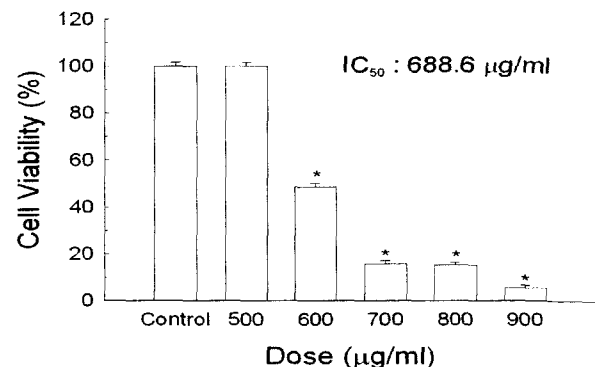


Fig. 1. Effect of *Coix Lachryma-Jobi* MeOH extract on the cell viability of L1210 cells. *: Significantly different from control group ($p < 0.001$).

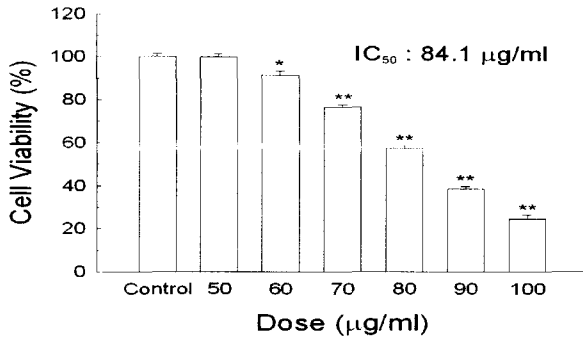


Fig. 2. Effect of *Coix Lachryma-Jobi* hexane fraction on the cell viability of L1210 cells. *: Significantly different from control group ($P < 0.05$); **: $P < 0.001$.

3. 각종 지방산이 L1210 세포의 세포생존율에 미치는 효과

Palmitic acid, stearic acid, linoleic acid, linolenic acid, oleic acid, arachidonic acid, palmitic acid methyl ester, stearic acid methyl ester, linoleic acid methyl ester, linolenic acid methyl ester, oleic acid methyl ester, arachidonic acid methyl ester에 대한 L1210 세포에 대한 IC₅₀을 측정된 결과는 Table 2와 같다.

Table 2. Effect of fatty acid and fatty acid methylester derivatives on the proliferation of L1210 cells.

Samples	IC ₅₀ (µg/ml)
Palmitic acid	>1,000
Stearic acid	>1,000
Oleic acid	113.4
Linoleic acid	87.9
Linolenic acid	65.4
Arachidonic acid	34.5
Palmitic acid methylester	>1,000
Stearic acid methylester	>1,000
Oleic acid methylester	655.3
Linoleic acid methylester	168.0
Linolenic acid methylester	85.6
Arachidonic acid methylester	68.3

4. 율무 hexane 분획이 L1210 세포의 DNA fragmentation에 미치는 효과

대조군의 L1210 세포에 대한 DNA fragmentation은 6.6 ± 1.2%이었으나, 율무 MeOH extract을 처리한 군은 19.0 ± 2.8%로 DNA fragmentation이 증가하였다 (Table 3). 율무 hexane분획을 40, 60, 80 및 100 µg/ml를 처리한 군은 12.1 ± 1.3, 31.8 ± 2.1, 40.5 ± 1.5 및 49.2 ± 1.3%로 DNA fragmentation이 농도의존적으로 증가하였다 (Table 4).

Table 3. Effect of *Coix Lachryma-Jobi* MeOH extract on DNA fragmentation of L1210 cells

Samples	DNA fragmentation (%)
Control	6.6 ± 1.2
MeOH extract	19.0 ± 2.8*

* Significantly different from control group ($p < 0.001$)

Table 4. Effect of *Coix Lachryma-Jobi* hexane fraction on DNA fragmentation of L1210 cells

Samples	Dose (µg/ml)	DNA fragmentation (%)
Control	-	11.8 ± 1.0
Hexane Fraction	40	12.1 ± 1.3
Hexane Fraction	60	31.8 ± 2.1*
Hexane Fraction	80	40.5 ± 1.5*
Hexane Fraction	100	49.2 ± 1.3*

* Significantly different from control group ($p < 0.001$)

5. 각종 지방산이 L1210 세포의 DNA fragmentation에 미치는 효과

각종 지방산 500, 250, 125 및 63 µg/ml를 처리하였을 때 L1210 세포의 DNA fragmentation은 Table 5와 같다.

Table 5. Effect of fatty acid and fatty acid methylester derivatives on DNA fragmentation of L1210 cells

Samples	Concentration (µg/ml)				
	Control	500	250	125	63
Oleic acid	13.5±2.1	75.2±3.0	54.7±1.2	13.8±2.5	-
Linoleic acid	13.5±2.1	73.0±3.6	48.4±2.6	38.1±2.8	18.5±2.1
Linolenic acid	11.2±1.0	72.2±2.8	56.2±2.7	44.2±2.5	27.8±1.4
Arachidonic acid	8.9±1.0	70.7±2.4	59.6±1.4	28.4±2.5	12.0±1.9
Oleic acid methylester	13.5±2.1	17.8±3.0	16.6±4.2	13.5±2.8	-
Linoleic acid methylester	11.2±1.0	61.0±1.5	53.6±3.1	26.6±1.3	16.7±3.3
Linolenic acid methylester	11.2±1.0	39.8±1.0	33.4±2.4	31.0±1.8	27.3±1.4
Arachidonic acid methylester	8.9±1.0	51.5±1.4	32.9±1.5	22.1±1.6	21.9±1.6

* Significantly different from control group ($p < 0.001$)

6. 율무가 생쥐 thymocytes 및 splenocytes의 세포생존율에 미치는 효과

율무 hexane 분획 1, 10 및 100 µg/ml를 thymocytes에 각각 처리하였을 때 세포생존율은 98.6 ± 1.3, 91.6 ± 1.6 및 46.3 ± 1.2%로 10 µg/ml 이상의 농도에서 세포생존율이 대조군에 비해 감소하였으며, splenocytes에 처리하였을 때도 세포생존율은 97.8 ± 1.4, 90.0 ± 1.9 및 30.8 ± 1.2%로 10 µg/ml 이상의 농도에서 세포생존율이 대조군에 비해 감소하였다 (Table 6).

Table 6. Effect of *Coix lachryma-jobi* hexane fraction on the cell viability of thymocytes and splenocytes

Samples (µg/ml)	Cell viability (%)	
	Thymocytes	Splenocytes
Control	100.0 ± 1.2	100.0 ± 1.3
1	98.6 ± 1.3	97.8 ± 1.4
10	91.6 ± 1.6	90.0 ± 1.9
100	46.3 ± 1.2**	30.8 ± 1.2**

* Significantly different from control group ($p < 0.05$); ** $p < 0.001$.

7. 율무가 복강 macrophage의 phagocytic activity에 미치는 효과

Chemiluminescence (CL)은 phagocytosis가 진행되는 동안 생성되는 oxygen radical에 의해 발생되며, lucigenin에 의해 증가는 것으로 알려져 있다¹⁸⁾. 율무 hexane fraction 1, 10 및 100 µg/ml를 처리하였을 때 10 µg/ml 이상의 농도에서 macrophages로부터 생성되는 CL의 양이 대조군에 비해 증가하였다 (Fig. 3).

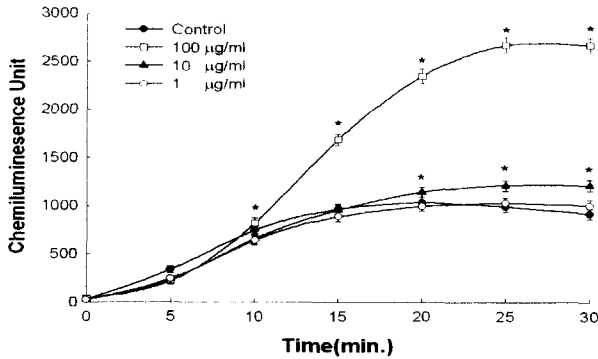


Fig. 3. Effect of *Coix Lachryma-Jobi* hexane fraction on phagocytosis of murine peritoneal macrophages. *: Significantly different from control group ($p < 0.001$).

고찰

올무는 다른 곡류에 비해 지방 함량이 많아, 총지방질은 3.7%이며, 중성지방이 87-88%로 대부분이고 그 외 당지질이 8-9%, 인지질이 3-4%로 보고되었으며²⁰⁾, 특히 oleic acid, linoleic acid 및 palmitic acid가 다량 함유되어 있다고 알려져 있다²¹⁾.

올무는 혈압강화작용²²⁾, 콜레스테롤저하작용²³⁾, 항균작용²⁴⁾, 혈당저하작용²⁵⁾ 등 다양한 약리작용들이 보고되었으며, Misuhiro 등²⁶⁾은 올무의 항암작용이 4개의 유리지방산 (palmitic acid, stearic acid, oleic acid 및 linoleic acid)에 기인한다고 보고하였다. Fatty acids 중에서도 주로 불포화지방산들이 암세포의 증식을 억제하며²⁷⁾, 암세포의 apoptosis를 유도하는 것으로 알려져 있다²⁸⁾.

본 실험에서 올무 hexane fraction의 성분을 규명하기 위해 각종 기기분석을 통하여 실험한 결과 다양한 fatty acid 및 fatty acid ester 유도체가 혼합되어 있는 것을 확인할 수 있었다 (Data not shown). 그러나 이들 성분의 분리정제 및 구조확인에 대해서는 추후 연구되어야 할 과제이다.

본 실험에서는 올무 hexane 분획과 주요 성분으로 추정되는 각종 fatty acid 및 fatty acid methyl ester 유도체의 암세포 증식 억제작용을 관찰하였다. 올무 MeOH extract는 600 µg/ml 이상의 농도에서 L1210 세포의 증식을 억제하였으며, 이를 hexane, ethylacetate, H₂O로 분획하여 실험한 결과 hexane 분획에서 효과가 나타났다. 올무 hexane 분획은 60 µg/ml 이상의 농도에서 L1210 세포의 증식을 억제하였다. Hexane 분획에 함유된 주요 성분이 fatty acid 및 fatty acid methyl ester 유도체로 추정되었기 때문에 포화지방산 및 불포화지방산과 그 methyl ester 유도체 12종, 즉 palmitic acid, stearic acid, linoleic acid, linoleic acid, oleic acid, arachidonic acid, palmitic acid methyl ester, stearic acid methyl ester, linoleic acid methyl ester, linolenic acid methyl ester, oleic acid methyl ester, arachidonic acid methyl ester가 L1210 세포의 증식에 미치는 영향을 관찰하였다. Fatty acid 유도체들은 포화지방산 보다 불포화지방산이 L1210 세포의 증식을 강력하게 억제하였으며, 이중결합의 수가 증가 할수록 L1210 세포의 증식을 강력하게 억제하였다. 또한 free fatty acid가 fatty acid methyl ester 유도체보다 L1210 세포 증식억제

작용이 강하였다. 이의 작용이 L1210 세포의 apoptosis에 의한 것인가를 확인하기 위하여 DNA fragmentation을 측정된 결과 올무 MeOH extract는 L1210 세포의 DNA fragmentation을 증가시켰으며, 올무 hexane fraction도 농도의존적으로 L1210 세포의 DNA fragmentation을 증가시켰다. 또한, free fatty acid와 fatty acid methyl ester 유도체도 L1210 세포의 DNA fragmentation을 증가시켰다. 이 결과는 올무 hexane fraction의 암세포 증식억제 작용이 암세포의 apoptosis 유도에 기인됨을 시사하는 것이다.

일반적으로 암세포에 세포독성을 나타내는 물질들은 면역세포에도 세포독성을 나타내기 때문에 면역세포인 thymocytes 및 splenocytes에 대한 세포생존율을 측정하였다. 올무 hexane fraction은 thymocytes 및 splenocytes를 10 µg/ml 이상의 농도에서 세포생존율을 억제하였다. 이는 올무 hexane fraction이 암세포뿐만 아니라 면역세포에도 세포독성을 나타내고 있음을 의미하는 것이다.

외부로부터 이물질이 침입하게 되면 생체는 자기방어를 위해 macrophages를 활성화시켜 phagocytosis를 촉진시킨다. 본 실험에서는 phagocytosis를 측정하는데 chemiluminescence를 측정하는 방법을 이용하였다¹⁸⁾. 복강 macrophage로부터 생성되는 chemiluminescence (CL)를 측정된 결과 올무 hexane fraction은 농도의존적으로 macrophages에서 생성되는 CL양을 증가시켰으며, 이는 올무 hexane fraction이 macrophages의 phagocytic activity를 증가시킴을 의미하는 것이다. 이상의 실험결과 올무의 암세포 증식억제작용은 올무에 함유된 지방산 및 지방산 ester 유도체에 의해 암세포의 apoptosis를 유도하여 일부 기인된다고 사료된다.

결론

올무가 백혈병세포주인 L1210 세포의 증식에 미치는 영향은 다음과 같다. 올무 MeOH extract 및 hexane fraction은 L1210 세포의 apoptosis를 유도하여 L1210 세포의 증식을 일부 억제하였고, 포화지방산보다 불포화지방산이 L1210 세포의 증식을 강력하게 억제하였으며, 이중결합의 수가 증가 할수록 L1210 세포의 증식을 강력하게 억제하였고, free fatty acid가 fatty acid methyl ester 유도체보다 L1210 세포의 증식을 강력히 억제하였다. 또한, fatty acid와 fatty acid methyl ester 유도체는 L1210 세포의 apoptosis를 유도하여 L1210 세포의 증식을 억제하였다. 올무 hexane fraction은 thymocytes 및 splenocytes의 세포생존율을 감소시켰으며, 복강 macrophage의 phagocytic activity를 증가시켰다.

감사의 글

본 연구는 교육인적자원부 지방연구중심대학육성사업 헬스케어기술개발사업단의 지원에 의해 연구되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 生藥學研究會 著. 現代生藥學, 學窓社, pp 529-530, 1998.

2. 薬品植物學研究會 著新・薬品植物學, 學窓社, pp 216-217, 1998.
3. Zhang, Y., Hou, G. and Yue, Y. The analgesic action of semen coicis on severe functional dysmenorrhea-a sequential trial observation. J. Tradit. Chin. Med., 20(4):293-296, 2000.
4. Hidaka, Y., Kaneda, T., Amino, N., Miyai, K. Chinese medicine, Coix seeds increase peripheral cytotoxic T and NK cells. Biotherapy, 5(3):201-203, 1992.
5. Kaneda, T., Hidaka, Y., Kashiwai, T., Tada, H., Takano, T., Nishiyama, S., Amino, N. and Miyai, K. Effect of coix seed on the changes in peripheral lymphocyte subsets. Rinsho Byori, 40(2):179-181, 1992.
6. Ukita, T., Tanimura, A. Studies on the anti-tumor component in the seeds of Coix Lachryma-Jobi L. var. Ma-yuen (Roman.) Stapf. I. Chem. Pharm. Bull. 9(1):43-46, 1961.
7. Tanimura, A. Studies on anti-tumor component in the seeds of Coix Lachryma-jobi L. var. Ma-yuen (Roman.) Stapf. II. Chem. Pharm. Bull. 9(1):47-53, 1961.
8. Numata, M., Yamamoto, A., Moribayashi, A., Yamada, H. Antitumor components isolated from the Chinese herbal medicine Coix lachryma-jobi. Planta Med. 60(4):356-359, 1994.
9. Tokuda, H., Matsumoto, T., Konoshima, T., Kozuka, M., Nishino, H., Iwashima, A. Inhibitory effects on Epstein-Barr virus activation and anti-tumor promoting activities of Coix Seed. Planta Med. 56, 653, 1990.
10. Numata, M., Yamamoto, A., Moribayashi, A., Yamada, H. Antitumor components isolated from the chinese herbal medicine Coix lacryma-jobi. Planta Med, 60, 356-359, 1994
11. Kim, S.J.: Antimutagenic and anticancer effects of Coix lacryma-jobi(adlay) and identification of the active components. Graduate School, Pusan National University. 1999.
12. Hayatsu, H., Arimoto, S., Negishi, T. Dietary inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. Mutation Res., 202, 429, 1988.
13. Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application to proliferation and cytotoxic assays. J. Immunol. methods. 65, 55-61, 1983.
14. Kotnic, V., Fleischmann, W.R.Jr. A simple and rapid method to determine hematopoietic growth factor activity. J. Immunol. methods. 129, 23-28, 1990.
15. Nicoletti, I., Migliorati, G., Pagliacci, M.C., Grignani, F., Riccardi, C.A. Rapid and simple method for mesuring thymocyte apoptosis by propidium iodide staining and flow cytometry. J. Immunol. Methods. 139, 271-279, 1991.
16. Wsocki, L.J., Sato, V.L. Planning for lymphocytes: A method for cell selection. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75, 2844-2848, 1978.
17. Mizel, S.B., Openheim, J.J., Rosensteich, D.L. Characterization of lymphocyte-activating factor(LAF) produced by the macrophage cell line P388D1. J. Immunol., 120, 1497-1503, 1979.
18. Channon, J.Y., Leslie, C.C., Johnston, Jr.R.B. Zymosan-stimulated production of phosphatidic acid by macrophages: relationship to release of superoxide anion and inhibition by agents that increase intracellular cyclic AMP. J. Leucocyte Biol., 41, 450-455, 1987.
19. Breiheim, G., Stendahl, O., Dahlgren, C. Intra-and extracellular events in luminol-dependent chemiluminescence of polymorphonuclear leukocytes. Infect. Immun., 45, 1-8, 1984.
20. 김진순. 울무지방질의 산화안정성 및 관련 향산화물질에 관한 연구. 부산대학교 대학원 석사학위논문, 1995.
21. Ohtsubo, K., Yanase, H., Hashimoto, K. Studies on the storage of Job's tears. Part I. Changes in Job's tears quality during storage under natural condition and storage at 40 °C. Rept. Nat'l. Food Res. Inst., 45, 76, 1984.
22. 김기환. 의이인 Ethanol extract의 혈압강화작용. 조선대학교, 제약연구, 41, 1980.
23. 박양자, 이영선,鈴木平光. 울무쌀이 쥐의 혈장 콜레스테롤 및 지질대사에 미치는 영향. 한국영양학회지, 21(2):88, 1988.
24. 石黒幸雄, 岡本賢治, 園田洋次: Antimicrobial activity in Etiolated Seedings of Adlay. 日本食品工業學會誌, 40(5):353, 1993.
25. Takahashi, M., Konno, C., Hikino, H. Isolation and hypoglycemic activity of Coixans A, B and C, glycans of Coix lachryma-jobi var. ma-yuen seeds. Planta Med. 52, 64, 1986.
26. Mitsuhiro, N., Akihiko, Y., Atsuko, M., Hiromi, Y. Antitumor components isolated from the Chinese herbal medicine Coix lachryma-jobi. Planta Med. 60, 356, 1994.
27. Chung, S. Park, S., Yang, C.H. Unsaturated fatty acids bind Myc-Max transcription factor and inhibit Myc-Max-DNA complex formation. Cancer Latt., 188(1-2):153-162, 2002.
28. Chen, Q., Galleano, M.,Cederbaum, A.I. Cytotoxicity and apoptosis produced by arachidonic acid in HepG2 cells overexpressing human cytochrome P-4502E1. Alcohol Clin. Exp. Res., 22(4):782-782, 1998.