

한국산 겨우살이 열매 추출물의 마우스 복강 대식세포 면역활성화 효과

이정림^{1,5} · 전영하^{1,5} · 양효선^{1,5} · 이경복^{2,5} · 송경식³ · 강태봉⁴ · 김종배⁴ · 유영춘^{1,5*}

¹건양대학교 의과대학 미생물학교실, ²건양대학교 의과대학 생화학교실, ³경북대학교 응용생물화학부
⁴한동대학교 생명식품공학부, ⁵건양대학교 의과대학 명곡의과학연구소

The Immunostimulatory Activity of The Water-Extract of Korean Mistletoe Fruit to Activate Murine Peritoneal Macrophages

Junglim Lee^{1,5}, Young-Ha Jeon^{1,5}, Hyo Seon Yang^{1,5}, Kyung-Bok Lee^{2,5}, Kyung-Sik Song³,
Tae-Bong Kang⁴, Jong-Bae Kim⁴ and Yung-Choon Yoo^{1,5*}

¹Department of Microbiology, College of medicine, Konyang University, Daejeon, Korea

²Department of Biochemistry, College of medicine, Konyang University, Daejeon, Korea

³Division of Applied Biology & Chemistry, Kyungpook National University, Sankyuk-Dong, Daegu, Korea

⁴Department of Biotechnology & Food Science, Handong University, Pohang, Korea

⁵Myunggok Research Institute for Medical Science, College of Medicine, Konyang University, Daejeon, Korea

Abstract – Mistletoe (*Viscum album*) is a common name for many species of semi-parasitic plants which grow on deciduous trees all over the world. In this study, the immunomodulatory activity of the water-extract of Korean mistletoe fruits (KMF-WE), was investigated on murine peritoneal macrophages. The culture supernatants of KMF-WE-stimulated murine peritoneal macrophages showed the increased production of IFN- γ , IL-1 β and TNF- α , in a dose-dependent manner. KMF-WE also induced chemokine production from murine peritoneal macrophages such as RANTES, MCP-1, MIP-1 α and MIP-1 β , as well as nitric oxide (NO) production, in a dose-dependent manner. The gel filtration fraction revealed F-1, which is the early-eluted and high molecular weight product, is the major fraction of KMF-WE to activate the murine peritoneal macrophage to induce cytokines, chemokines and NO. The nature of F-1 fraction needs to be examined in detail in further studies to define the regulatory mechanisms of cytokine or chemokine induction by KMF-WE on macrophages. These results suggest that KMF-WE possess a potent immunostimulant activity and can be a promising candidate available for development of immunomodulators.

Key words – *Viscum album*, fruit-water extract, murine peritoneal macrophage, cytokines, chemokines

겨우살이(mistletoe, *Viscum album*)는 여러 종류의 나무를 숙주로 하여 성장하는 반 기생식물로서 세계 전역에는 30속 1,500종의 식물이 있는 것으로 알려져 있다. 여러 종류의 겨우살이 중 유럽의 *Loranthaceae* 과에 속하는 *Viscum album* *Loranthaceae*는 오래 전부터 민간요법으로서 고혈압, 동맥경화증, 암 등의 질병에 대해 치유효과가 있는 신비의 약제로 사용되었으며, 1921년부터 항암활성을 인정받아 종양에 대한 치료제 및 항암 보조제로서 임상적으로 사용되고 있다. 현재까지 겨우살이의 생물학적 활성에 대한 대부분의 연구는 주로 유럽산 겨우살이에 대해 수행되어 왔다.¹⁻³ 유럽산 겨우살이는 체액성 및 세포성 면역체계를 자극하는

면역증강 효과가 있다고 보고되었으며,⁴ 동물 및 인간에 대한 임상시험 결과 종양세포에 대하여 직간접적으로 대응하는 대식세포와 NK세포의 활성을 증가시킴으로서 종양세포의 증식을 억제하고,^{3,5-8} 암 환자의 생존율을 증진시키는 효과가 있는 것으로 보고 되었다.⁹⁻¹¹ 또한 이러한 효과에는 겨우살이의 면역증강 작용뿐만 아니라 종양세포에 대한 직접적인 세포독성 효과도 관련 있는 것으로 알려졌으며, 대표적인 활성물질로서 lectin 성분을 들고 있다.¹²⁻¹⁴

유럽산 겨우살이와 구별되는 한국산 겨우살이(*Viscum album* *Coloratum*)는 황금가지, 상기생, 곡기생 또는 북기생 등으로 불리우는 기생목으로서 팽나무, 참나무, 떡갈나무, 밤나무, 자작나무, 버드나무, 오리나무, 동백나무, 감탕나무, 광나무 등 많은 나무에 기생하는 국내 자생식물이다. 한국

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

산 겨우살이는 유럽산 겨우살이와는 종이 다른 겨우살이로서 다양한 생리활성을 지니며, 민간 및 한방에서 요통, 고혈압, 유산방지, 치통에 대한 약재로 사용하여 왔으며, 한방에서는 숙주나무에 따라 상기생, 기생목, 해기생 등의 각기 다른 이름으로 불리어 진 것으로 보아, 숙주나무에 따라 성분과 효능에 있어서 다소 차이가 있는 것으로 알려져 있다. 실제로 유럽산 겨우살이에서는 숙주에 따른 lectin 함량 등의 차이가 보고 되어,¹⁵⁾ 한국산 겨우살이에서도 숙주에 따라 성분의 변화가 있는 것으로 추정되고 있다.

한국산 겨우살이는 단백질 성분을 비롯하여, 탄수화물, alkaloid, viscotoxin, 지질성분 등 다양한 성분에 의해 구성되어 있다. 특히 단백질 성분에는 당과 결합하는 성질을 가진 lectin 과 그 외의 여러 종류의 non-lectin 단백질 분획이 함유되어 있으며, 또한 비단백질 성분들은 각각 생리활성이 다르고^{16,17)} 또한 일부의 물질은 생체에 독성을 나타낼 수 있다.

한편 유럽산과 한국산을 막론하고, 겨우살이의 생리활성에 관한 연구는 잎과 줄기의 성분에 집중되어 왔으며, 열매 성분에 대한 정보를 제공하는 보고는 전무한 상태이다. 본 연구에서는 한국산 겨우살이 열매성분의 생물학적 특성을 규명하기 위한 목적으로, 식품소재로서의 적용에 있어서 가장 일반적이며 간편한 추출방식인 물추출법을 이용하여 한국산 겨우살이 열매의 물추출물 (Korean mistletoe fruit-water extract; KMF-WE) 을 준비하고, 이 추출물의 마우스 복강 대식세포에 대한 면역학적 기능조절 효과에 대해 검토하였다.

재료 및 방법

겨우살이 열매의 수집 및 추출 - 연구에 사용한 한국산의 겨우살이 열매는 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 funnel 를 이용하여 강압여과하고, 강압 농축을 실시하여 흰색의 추출물 KMF-WE(225 g, 수율 8.5%)를 얻었다. 추출이 끝난 KMF-WE는 PBS (phosphate buffer saline pH7.3)로 10 mg/ml의 농도로 조정하여 stock solution으로 만든 후, 20°C에 저장하면서 실험에 사용하였다. 겨우살이 열매 추출물의 열처리 autoclave를 이용하여 실시하였다.

마우스 복강 대식세포 분리 및 배양 - 실험에 사용된 마우스는 생후 6-8주령의 Balb/c 마우스(암컷)를 Orient Ltd. (Seoul, Korea)로부터 구입하여 사용하였다. Balb/c 마우스에 2% thioglycollate (Sigma, MO, USA) 를 1 ml씩 복강주사하고 4일 후에 복강 내 삼출세포(peritoneal exudative cells: PEC)를 수집하였다. PEC을 24 well culture plate 에

5×10⁶/500 μl/well의 농도로 분배하고 2시간 동안 배양한 후, 부착되지 않은 세포들을 제거하고 plate에 부착된 복강 대식세포에는 5% FBS (Gibco Life Technologies, CA, USA)가 함유된 RPMI-1640 배지 (Gibco Life Technologies)를 첨가하여 5% CO₂, 37°C 의 조건하에서 배양한 후 실험에 사용하였다.

Cytokine 및 chemokine ELISA 측정 - 마우스 복강 대식세포에 대한 KM-WE의 면역학적 활성 효과를 측정하기 위해 복강 대식세포를 배양액, 50, 100, 500 μg/ml농도의 KM-WE 또는 5 μg/ml의 LPS (Sigma)로 48 시간 자극한 후 각각의 배양 상청액을 수집하여 cytokine (IFN-γ, IL-1β, TNF-α) 및 chemokine (MIP-1α, MIP-1β, RNATES, MCP-1)의 양을 ELISA kit (R&D, MN, USA)을 이용하여 제조사의 실험방법에 따라 측정하였다.

Nitric oxide (NO) 생산 측정 - KMF-WE로 48시간 자극한 마우스 복강 대식세포 배양 상청액으로부터 Nitric Oxide (NO) detection kit (iNtRON, Seoul, Korea)를 사용하여 제조사의 실험방법을 토대로 NO 생성을 측정하였다. 배양 상청액을 원심분리하여 cell debris를 제거한 후, 100 μl/well로 96 well plate에 triplicate로 분주하였다. Sulfanilamide가 포함된 N1 substrate 용액 50 μl를 분주된 배양 상청액에 첨가하고 상온에서 5-10분간 방치하였다. 이어서 Naphthylethylenediamine이 포함된 N₂ 발색용액을 첨가하여 상온에서 10분간 발색시킨 후, ELISA plate reader (BioRad, CA, USA)를 사용하여 540 nm 에서 흡광도를 측정하였다. 각 상청액 중의 NO농도의 정량은 1 mM의 nitrate를 이용하여 표준곡선을 작성하여 이로부터 계산하였다.

분자량별 분획화 및 gel filtration - KMF-WE를 분자량별로 분획화 하기 위해 KMF-WE 2 ml을 centricon (M.W. 10,000 cut-off; Millipore, MA, USA)에 넣고 원심분리 하여 centricon을 통과한 분자량 10,000이하의 분획을 회수하였다. 분자량 10,000이상의 분획은 centricon의 sample reservoir에 남은 용액을 dialysis tubing (M.W. 10,000 cut-off)에 넣어 4°C에서 하룻밤 동안 투석하여 분자량 10,000이하의 분자를 모두 제거한 후 사용하였다.

Gel filtration은 Bio-Gel P30 (Bio-Rad)을 제조사의 지침에 따라 swelling 시킨 후, bead를 column의 80%정도까지 PBS로 충전시키고, KMF-WE를 column에 첨가하여 PBS를 이용하여 용출하였다. 수거된 각 분획은 280 nm에서 흡광도를 측정하고, 단백질 정량은 protein assay kit (Boehringer Mannheim, Germany)을 이용하여 측정하였다.

결 과

KMF-WE 자극에 의한 마우스 복강 대식세포의 면역활성화 - 현재까지 겨우살이의 면역증강 효과에 대한 연구는

유럽산 또는 한국산 겨우살이를 막론하고 줄기와 잎 성분이 생리 활성에 초점이 맞추어져 왔으며, 겨우살이 열매 추출물이 면역계에 미치는 영향에 관한 보고는 전무한 상태이다. 따라서, 본 연구에서는 KMF-WE의 대식세포 활성화의 지표로서 IFN- γ , IL-1 β 및 TNF- α 등의 cytokine과 대식세포를 비롯하여 여러 세포에서 방출되어 림프구의 이동과 활성화와 염증작용의 조절을 담당하는 chemokine의 유도능을 *in vitro* 실험에서 조사하였다.

열을 가하지 않은 native form의 KMF-WE를 50, 100, 500 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 마우스 복강 대식세포를 48시간 자극하였을 때, IFN- γ , IL-1 β 및 TNF- α 등의 cytokine의 분비가 농도 의존적으로 유도되었으며 (Fig. 1), 양성대조군인 LPS (5 $\mu\text{g/ml}$)에 의한 활성화와 비슷한 정도의 강한 유도능을 관찰할 수 있었다. 또한 KMF-WE의 자극에 의해 복강대식세포로부터 RANTES, MCP-1, MIP-1 α 및 MIP-1 β 과 같은

chemokine들도 KMF-WE 농도 의존적으로 분비가 유도되었다 (Fig. 2). 또한, 미생물과 종양에 대해 억제적인 효과를 가지는 nitric oxide (NO)의 분비도 KMF-WE 자극에 의해 농도 의존적으로 유도되었으나, 500 $\mu\text{g/ml}$ 의 고농도로 자극하였을 때에도 양성대조군인 LPS에 의해 분비되는 양의 1/2 수준의 NO가 분비 됨을 관찰하였다 (Fig. 3).

한편, KMF-WE를 121°C에서 15분간 열 처리하여 단백질 성분을 변형시킨 KMF-WE (heated-KMF-WE)로 복강 대식세포를 자극하였을 때, IFN- γ 는 native form KMF-WE 자극에 비해 50-60% 분비가 감소됨이 관찰되었으며, IL-1과 TNF- α 는 고농도 (500 $\mu\text{g/ml}$) 자극에서도 분비유도가 현저히 감소하였다 (Fig. 1). 또한, heated-KMF-WE는 농도 의존적으로 마우스 복강 대식세포의 chemokine 및 NO 생성 유도능을 현저히 감소시켰다 (Fig. 2 & 3). 이러한 결과들을 종합해 볼 때 KMF-WE 성분 중 열에 민감한 성분이 마

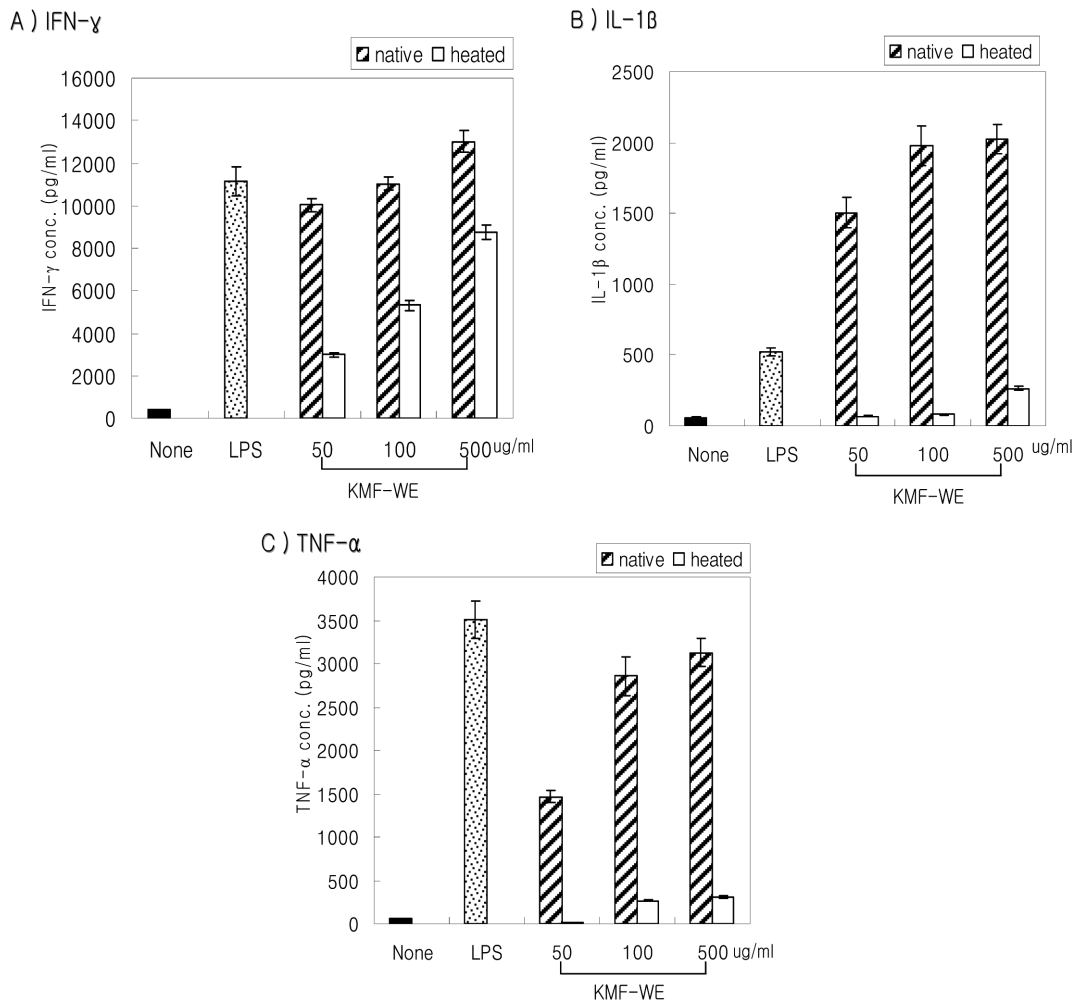


Fig. 1. Effect of KMF-WE on cytokine production from murine peritoneal macrophages. Peritoneal macrophages obtained from 2% thioglycollate-treated Balb/c mice were stimulated with 50, 100 or 500 $\mu\text{g/ml}$ of native KMF-WE (hatched bar) or heated KMF-WE (empty bar) for 48 hrs. LPS (5 $\mu\text{g/ml}$) was used for positive control. The level of IFN- γ (A), IL-1 β (B) and TNF- α (C) in the culture supernatants was determined by ELISA kit. The result is the representative one from three independent experiments.

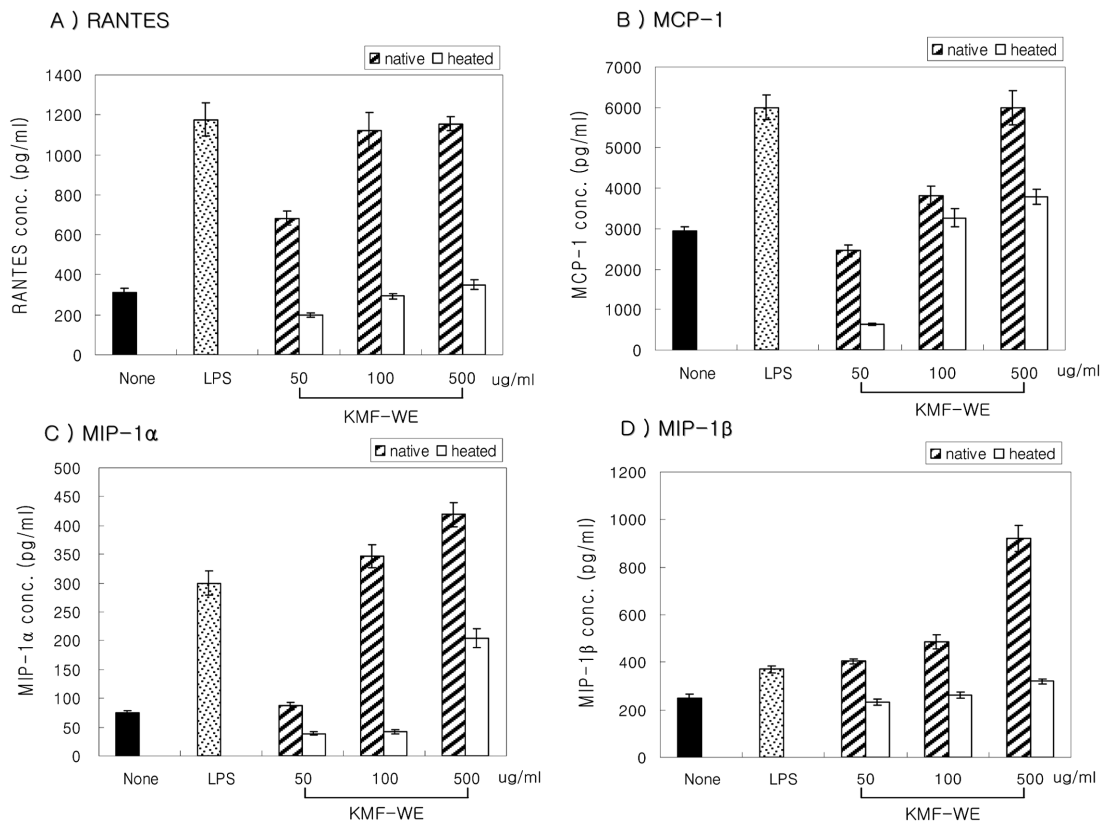


Fig. 2. Effect of KMF-WE on chemokine production from murine peritoneal macrophages. Peritoneal macrophages were stimulated with 50, 100 or 500 $\mu\text{g/ml}$ of native KMF-WE (hatched bar) or heated KMF-WE (empty bar) for 48hrs. LPS (5 $\mu\text{g/ml}$) was used for positive control. The level of RANTES (A), MCP-1 (B), MIP-1 α (C) and MIP1- β (D) in the culture supernatants was determined by ELISA kit. The result is the representative one from three independent experiments.

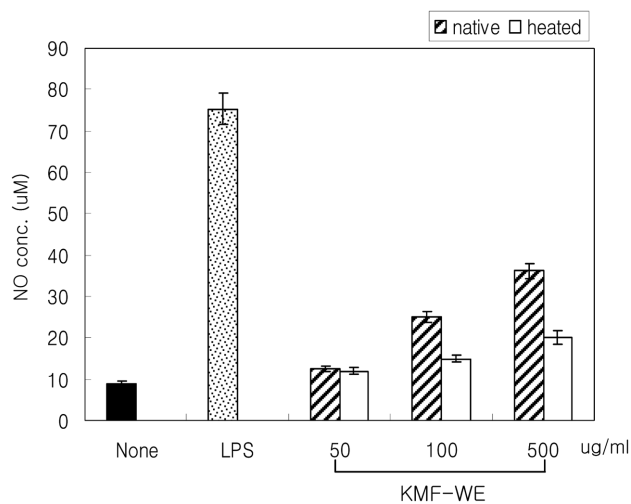


Fig 3. Effect of KMF-WE on nitric oxide (NO) production from murine peritoneal macrophages. Peritoneal macrophages were stimulated with 50, 100 or 500 $\mu\text{g/ml}$ of native KMF-WE (hatched bar) or heated KMF-WE (empty bar) for 48 hrs. LPS (5 $\mu\text{g/ml}$) was used for positive control. The level of NO in the culture supernatants was determined by NO detection kit. The result is the representative one from three independent experiments.

우스 복강 대식세포를 활성화 시켜 cytokine과 chemokine의 분비를 유도하는 주성분인 것으로 추정되었다.

KMF-WE의 활성 분획 분석 - 마우스 복강 대식세포로부터 cytokine과 chemokine의 유도에 중요한 KMF-WE의 활성분획을 조사하기 위하여, KMF-WE를 Centricon-10과 투석을 통해 분자량 10,000 이상의 분자와 그 이하의 분획으로 나눈 후, 이들 분획을 구성하는 물질의 분자량을 SDS-PAGE에 전개한 후 silver stain을 통해 확인하였다 (data not shown). 또한 각각의 분획을 마우스 복강 대식세포에 처리하여 IFN- γ 유도 활성을 측정된 결과, 분자량 10,000 이상의 분획 성분이 전체 KMF-WE의 50-60% 수준에서 농도 의존적으로 IFN- γ 생산을 유도함을 관찰하였다 (Fig. 4).

Fig. 4의 결과에서 마우스 복강 대식세포를 활성화시켜 IFN- γ 의 분비를 유도하는 KMF-WE의 활성 분자는 분자량 10,000 이상인 것으로 추정되었으므로, 이 활성분획을 보다 정확하게 동정하기 위해 Bio-Gel P-30 column을 이용한 gel filtration을 시도하였다. Gel filtration을 통해 얻어진 6개 분획 (F-1 ~ F-6; Fig. 5)을 전기영동에서 확인하고 (data not shown) 단백질을 정량 한 후, 각각의 분획을 5 및 10 $\mu\text{g/ml}$

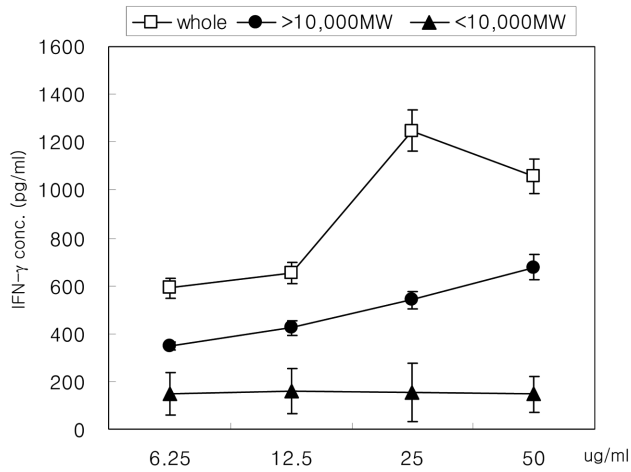


Fig. 4. The KMF-WE molecules were fractionated into two fractions using Centricon based on MW cut-off 10,000. Peritoneal macrophages were stimulated with 6.25, 12.5, 25 and 50 μg/ml of each fraction of KMF-WE, along with whole molecule of KMF-WE, for 48 hrs. The level of IFN-γ in the culture supernatants was measured by ELISA kit. The result is the representative one from three independent experiments.

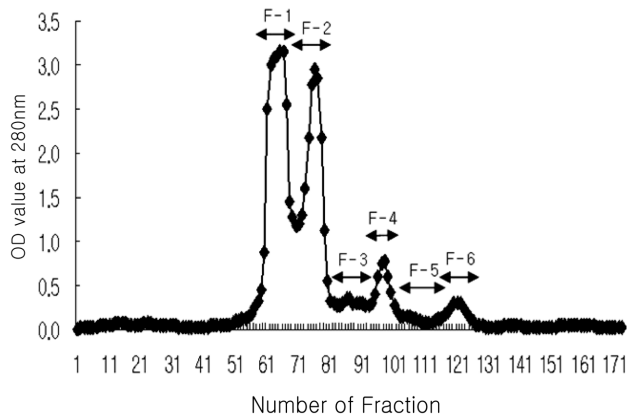


Fig. 5. The Gel filtration fractionation of KMF-WE extract. Total of 6 fractions were obtained using Bio-Gel P30 filtration; F-1~F-6.

농도로 마우스 복강 대식세포에 자극한 후 IFN-γ, IL-1β 및 TNF-α들의 cytokine 및 NO 분비 유도활성을 조사하였다. 그 결과, 초기에 용출된 분자량이 높은 분획(F-1)에서 total KMF-WE와 동등하거나 혹은 그 이상의 cytokine 및 NO 분비 활성을 가지는 것으로 확인되었다(Fig. 5 & 7). 한편, 각각의 분획 (F-1~F-6)으로 복강 대식세포를 자극하였을 때 RANTES, MIP-1α 및 MIP-1β 등 chemokine 도 F-1 분획에서 가장 많이 분비되었으나, IFN-γ 등의 cytokine과는 다르게 total KMF-WE 보다 각각의 분획 성분들이 더 많은 chemokine 분비를 유도함이 관찰되었다 (Fig. 6). 흥미롭게도 F-1 분획은 양성대조군인 LPS (5 μg/ml) 보다 더 강력

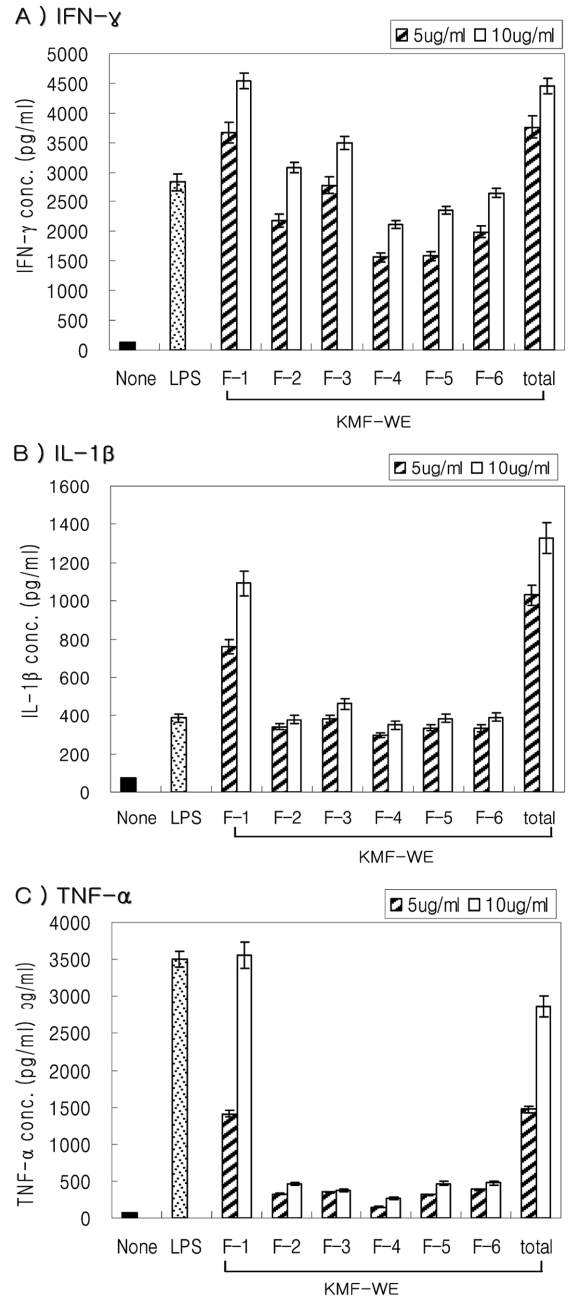


Fig. 6. The effect of fractions of KMF-WE on cytokine production from peritoneal macrophages. The 6 fractions, which were obtained from Bio-Gel P30 filtration, were used for stimulation of murine peritoneal macrophages at 5 μg/ml (hatched bar) or 10 mg/ml (empty bar) for 48 hrs. LPS (5 μg/ml) was used for control. The level of IFN-γ (A), IL-1β (B) and TNF-α (C) in the culture supernatants was determined by ELISA kit. The result is the representative one from three independent experiments.

한 IFN-γ나 IL-1β 등의 cytokine 및 chemokine과 NO 생성 유도능을 지니고 있음을 확인할 수 있었으며, 이러한 결과는 F-1 분획이 KMF-WE 성분 중 마우스 복강 대식세포를

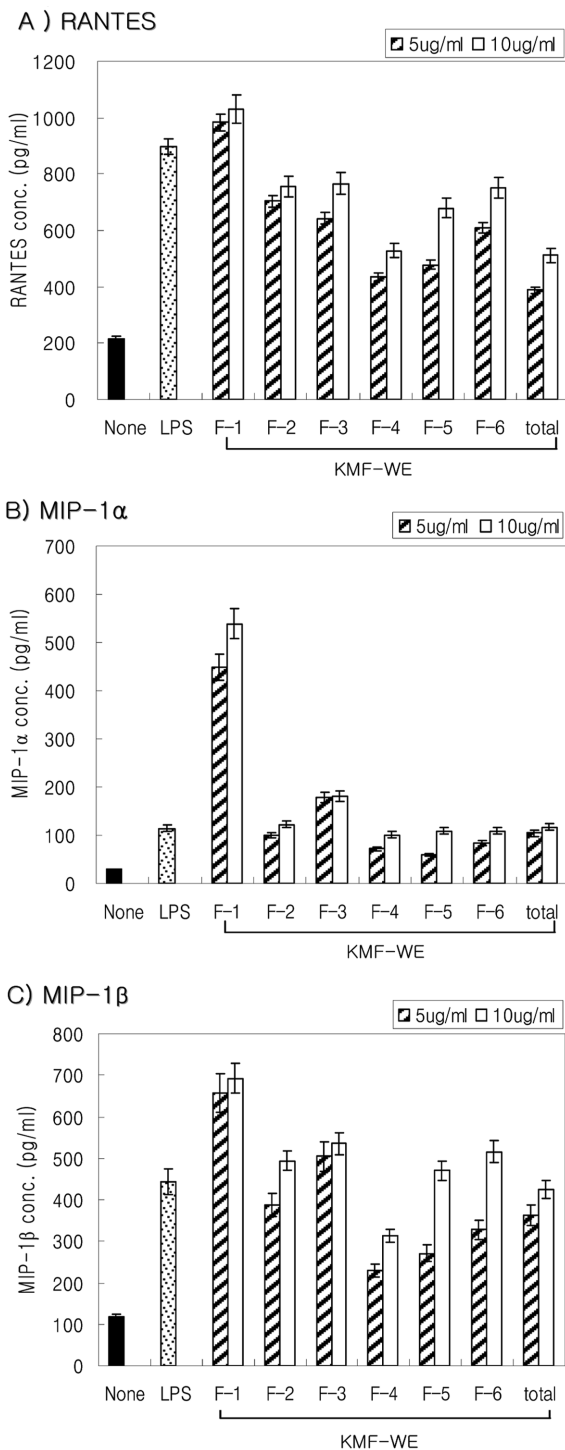


Fig. 7. The effect of fractions of KMF-WE on chemokine production from peritoneal macrophages. The 6 fractions, which were obtained from Bio-Gel P30 filtration, were used for stimulation of murine peritoneal macrophages at 5 μg/ml (hatched bar) or 10 μg/ml (empty bar) for 48 hrs. LPS (5 μg/ml) was used for control. The level of RANTES (A), MIP-1α (B) and MIP-1β (C) in the culture supernatants was determined by ELISA kit. The result is the representative one from three independent experiments.

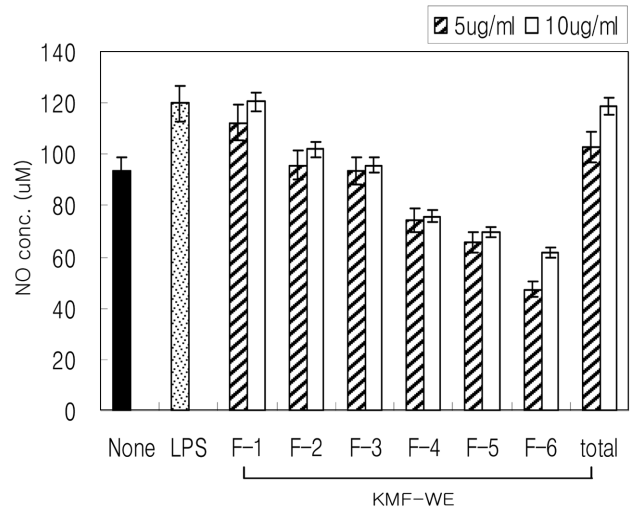


Fig. 8. The effect of fractions of KMF-WE on nitric oxide (NO) production from peritoneal macrophages. The 6 fractions, which were obtained from Bio-Gel P30 filtration, were used for stimulation of murine peritoneal macrophages at 5 μg/ml (hatched bar) or 10 μg/ml (empty bar) for 48 hrs. LPS (5 μg/ml) was used for control. The level of NO in the culture supernatants was determined by NO detection kit. The result is the representative one from three independent experiments.

활성화시키는 가장 주성분을 포함하고 있음을 의미한다고 할 수 있다. 향후 F-1 분획의 주성분을 분석하기 위한 연구를 수행할 필요가 있는 것으로 사료된다.

고 찰

지금까지 겨우살이에 대한 연구는 유럽산과 한국산을 막론하고 그 줄기와 잎 추출물을 이용하여 면역증강 효과 및 항종양효과 등이 보고되고 있으며, 그 활성성분으로 lectins, polysaccharide 및 alkaloids 등이 알려져 있다.^{4,17,18)} 보고에 의하면, 한국산 겨우살이의 잎과 줄기 추출물(KM-110)은 대식세포를 직접 활성화시켜 IFN-γ와 IL-1β의 분비를 유도하며, 또한 이들 cytokine들을 유도하는 활성성분은 ammonium sulfate에 의해 침전되는 단백질 성분인 것으로 확인되었다.²⁰⁾ 또한 KM-110에서 분리한 lectin 성분은 암세포에 대한 apoptosis 유도활성과,²¹⁾ immunoadjuvant활성을 지니는 것으로 밝혀졌다.²²⁾

본 연구에서는 한국산 겨우살이 열매의 물추출물 (KMF-WE)을 이용하여 마우스 복강 대식세포에서 면역활성화 기능에 대해 조사한 결과, KMF-WE의 열에 민감한 단백질 성분이 복강 대식세포를 활성화시켜 IFN-γ, IL-1β 및 TNF-α 등의 cytokine 분비를 유도하였다. 또한, 열에 민감한 단백질 성분은 RANTES, MIP-1, MCP 등의 chemokine 및 NO의 생성도 유도함을 관찰하여 열매 성분 중 열에 민감한 수용

성 단백질 성분이 면역활성화에 주요 역할을 담당하고 있리라 추정하였다. 이러한 면역활성성분은 특히 분자량이 10,000 이상이면서 gel filtration fraction 과정에서 초기에 용출되는 고분자 분획에 속하는 물질 (F-1)로서 IFN- γ 및 IL-1 β 생성 유도능에 있어서는 KMF-WE 전체 분자와 동등하거나 또는 그 이상의 생성 유도능을 관찰할 수 있었다. 흥미롭게도 RANTES, MIP-1 등의 chemokine 생성능에 있어서는 KMF-WE 전체 분자에 비해 gel filtration fraction을 통해 얻은 각각의 분획들 (F-1~F-6)이 마우스 복강 대식세포로부터 더 많은 chemokine의 생성을 유도하였으며, 이들 분획들 중에서도 F-1 성분이 가장 강력하게 chemokine 생성을 유도하였다. F-1 성분의 RANTES, MIP-1 α 및 MIP-1 β 생성능이 양성 대조군인 LPS (5 μ g/ml) 자극에 의한 생성 유도능 보다 강력하였다. 이러한 결과들을 종합했을 때 KMF-WE 자극에 의한 마우스 복강 대식세포의 활성화에 따른 IFN- γ 등의 cytokine 생성과 RANTES 등의 chemokine의 생성 기전이 다르게 조절되고 있음을 의미한다. Mueller 등은²³⁾ 겨우살이 성분 중에서 당류 및 저분자 물질^{24,26)} 등이 IFN- γ 의 유도 및 자연살해세포(NK cell)의 종양세포 살해능을 증진시키는 효과가 있는 것으로 보고하여,⁵⁾ 겨우살이에 lectin 이 외의 활성성분이 존재한다는 것을 강하게 제시하였다. 또한, IFN- γ 를 유도하는 활성성분으로 당류 및 저분자 peptide를 보고하였다.^{25,27)} 유럽의 겨우살이에 관한 이전의 보고^{25,28,29)}에서, lectin 또는 저분자 peptide 성분이 cytokine 유도에 관련하는 것이 알려져 있다. 즉, IFN- γ 를 생성함에 있어서는 KMF-WE 전체 분자에서 F-1 분획과 저분자량의 단백질들이 함께 상호작용하여 강력한 생성 유도 자극으로 작용하지만, RANTES 등의 chemokine 생성에 있어서는 분자량 10,000 이하의 저분자 물질들 중에 F-1 분획 성분과 상호작용하여 오히려 chemokine 생성을 억제하는 성분들이 존재한다고 여겨진다. 하지만, F-1 분획 성분에 대한 자세한 분석 및 chemokine 생성을 억제할 수 있는 저분자량 물질에 대한 연구가 더 진행되어야 KMF-WE에 의한 마우스 복강 대식세포에서의 cytokine 및 chemokine 생성 조절기전에 대한 차이점에 대한 이해도 더욱 명확해질 것이라 사료된다.

결 론

한국산 겨우살이 열매 물추출물 (KMF-WE)을 이용하여 마우스 복강 대식세포에 대한 활성화를 조사한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다. KMF-WE는 마우스 복강 대식세포를 활성화 시켜 IFN- γ , IL-1 β 및 TNF- α 등의 cytokine과 RANTES, MCP-1, MIP-1 α 및 MIP-1 β 등의 chemokine 및 NO의 생성을 유도하는 면역 활성 성분을 가지고 있음을 확인하였다. KMF-WE의 면역 활성 성분은 열에 민감하며 분

자량 10,000 이상의 고분자 물질로 추정되며, 특히 gel filtration 분획 과정에서 초기에 용출되는 고분자 물질 (F-1)이 cytokine 및 chemokine 생성 유도에 가장 핵심 성분임을 확인하였다.

사 사

이 논문은 2007년 건양대학교 명곡 학술학술비 지원에 의하여 이루어진 것임.

인용문헌

1. 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.
2. Kuttan, G. and Vasudevan, D. M. (1988) Isolation and identification of a tumor reducing component from mistletoe extract (Iscaador). *Cancer Letters* 41: 307-314.
3. Schink, M. (1997) Mistletoe therapy for human cancer: the role of the natural killer cells. *Anti-Cancer Drugs* 8 (Suppl.1): s47-s51.
4. 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.
5. Mueller, E. A., Hamprecht and Anderer, F. A. (1989) Biological characterization of a component in extract of *Viscum album* enhancing human NK cytotoxicity. *Immunopharmacol.* 17: 11-18.
6. 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.
7. Hajto, T., Hostanska, K. and Frei, K. (1990) Increased secretion of tumor necrosis factor- α , interleukin 1, and interleukin 6 by human mononuclear cells exposed to b-galactoside lectin from clinically applied mistletoe extract. *Cancer Res.*, 50: 3322-3326.
8. Kuttan, G. and Menon, L. G. (1996) Prevention of 20-methylcholanthrene-induced sarcoma by a mistletoe extract, Iscaador. *Carcinogenesis* 17: 1107-1109.
9. Hajto, T., Hostanska, K. and Gabius, H.-J. (1989) Modulatory potency of the β -galactoside-specific lectin from mistletoe extract (Iscaador) on the host defense system in vitro in rabbits and patients. *Cancer Res.* 49: 4803-4808.
10. Heiny, B. M. and Beuth, J. (1994) Mistletoe extract standardized for the galactoside-specific lectin (ML-1) induces β -endorphin release and immunopotentiality in breast cancer patients. *Anticancer Res.* 14: 1339-1342.
11. 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.
12. 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.
 13. Beuth, J. (1997) Clinical relevance of immunoactive mistletoe lectin-1. *Anti-Cancer Drugs* **8** (Suppl. 1): s53-s55.
 14. Hajto, T., Hostanski, K., Fischer, J. and Saller, R. (1997) Immunomodulatory effects of *Viscum album* agglutinin-I on natural immunity. *Anti-Cancer Drugs* **8** (Suppl.1): s43-s46.
 15. Jaggy, C., Musielski, H., Urech, K. and Schaller, G. (1995) Quantitative determination of lectins in mistletoe preparations. *Arzneim-Forsch/Drug Res.* **45**: 905-909.
 16. 최승영, 정신교, 김숙경, 유영춘, 이경복, 김종배, 김자영, 송경식. (2004) 한국산 겨우살이 (*Viscum album* Coloratum)로부터 분리한 homo-flavoyadorinin-B의 항산화 활성. *J. Korean Soc. Appl. Biol.Chem.* **47**: 279-282.
 17. 윤택준, 박성민, 양승훈, 정희윤, 이안나, 유영춘, 강태봉, 김종배. (2009) 한국산 겨우살이 추출물의 in vivo 독성 및 항종양 효과. *생약학회지* **40**: 205-212.
 18. Kuttan, G. and Vasudevan, D. M. (1990) Effect of a preparation from *Viscum album* on tumor development in vitro and in vivo. *J. Ethnopharmacol.* **29**: 35-41.
 19. Wagner, H. and Jordan, E. (1988) An immunologically active arabinogalactan from *Viscum album* 'berries'. *Phytochemistry* **27**: 2511-2517.
 20. Olsnes, S., Stirpe, F., Sandvig, K. and Pihl, A. (1982) Isolation and characterization of viscumin, a toxic lectin from *Viscum album* L. (mistletoe). *J. Biol. Chem.* **257**: 13263-13270.
 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. (1999) Lectin isolated from Korean mistletoe (*Viscum album* Coloratum) induced apoptosis in tumor cells. *Cancer Letters* **136**: 33-40.
 22. 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.
 23. Mueller, E. A. and Anderer, F. A. (1990) A *Viscum album* oligosaccharide activation human natural cytotoxicity is an interferon γ inducer. *Cancer Immunol. Immunother.* **32**: 221-227.
 24. Kuttan, G. (1993) Tumoricidal activity of mouse peritoneal macrophage treated with *Viscum album* extract. *Immunol. Investi.* **22**: 431-440.
 25. Kuttan, G. and Vasudevan, D. M. (1992) Tumor reducing activity of a isolated activity ingredient from mistletoe extract and its possible mechanism of action. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* **11**: 7-12.
 26. Kraus, J. (1991) Relationship between immunological activity in vitro and antitumor effect in vivo of various polysaccharide. *Pharm. Pharmacol. Lett.* **1**: 11-14.
 27. Mueller, E. A. and Anderer, F. A. (1990) *Viscum album* oligosaccharide activating human natural cytotoxicity is an interferon γ inducer. *Cancer Immunol. Immunother.*, **32**: 221-227.
 28. Beuth, J. and Ko, H. L. (1994) Immunoprotective activity of the galactoside -specific mistletoe lectin in cortisone-treated Balb/c-mice. *In vivo* **8**: 989-992.
 29. Ribbereau-Gayon, G. and Jung, M. L. (1997) Modulation of cytotoxicity and enhancement of cytokine release induced by *Viscum album* Loranthaceae extract or mistletoe lectin. *Anti-Cancer Drugs* **8** (Suppl.1): s3-s8.
- (2010. 4. 29 접수; 2010. 5. 11 심사; 2010. 5. 13 게재확정)