

Linoleic acid와 Ursolic acid가 마우스 Natural Killer 세포활성에 미치는 효과

고신대학 의학부 미생물학교실
김광혁, 장명웅

동아대학교 생물학과
선우양일

The Influence of Linoleic acid and Ursolic Acid on Mouse Natural Killer Cell Activity

Kwang Hyuk Kim, Myung Woong Chang

*Department of Microbiology,
Kosin Medical College, Pusan 602-702, Korea*

Yangil Sunwoo

Department of Biology, Dong-A University, Pusan, Korea

=Abstract=

Several studies have reported that linoleic acid(LA) and ursolic acid(UA) extracted from yellow-green vegetables reveal antitumor activities. In the present study we examined the natural killer(NK) cell activity in order to elucidate the mechanism of antitumor activity of these substances.

The findings in this study are summerized as follows. The NK cell activity was significantly augmented by LA and UA both in vitro and in vivo. The effect of LA appeared to be proportional to its concentration, however the effect of UA was inhibitory at high concentration (5.00 μ g/ml). Similar augmentations of NK cell activity were obtained with culture supernatants of LA or UA-exposed spleen cells and peripheral blood mononuclear cells.

With these results, we suggest that the LA or UA-exposed cells

produce cytokines related to enhancement of NK cell activity.

Key words : Linoleic acid, Ursolic acid, NK cell activity.

서 론

근래 녹황색채소류에서 항암효과를 나타내는 활성물질들이 분리동정되고 있으며 이들 물질의 항암기작을 연구하기위한 많은 시도가 있어 왔다^{1,2,3,7,10}). 마늘과 비파열에서 추출하여 항돌연변이물질로 동정이 되었던 linoleic acid(LA)와 ursolic acid(UA)의 항암효과에 대하여는 분자생물학적 차원에서 효과확인시험들이 이루어지고 있다¹⁵). LA는 필수지방산으로서 vitamine K의 성분이 되고 있으며 채소지방의 주요구성성분이기도 하다. 즉, 목화씨, 콩, 낙화생, 옥수수, 해바라기씨, 잇꽃, 양귀비씨, 아마인의 씨 등에서 나타나고 있다. UA는 식물잎이나 장과류에 포함되 있거나 사과, 배등의 과일에서 딱딱한 지질과 같은 피막을 형성하기도 한다.

Tokuda등³⁰)은 UA가 마우스피부에서 암세포성장억제에 관여함을 보고한 바 있으며 또한, Leyton등²³)은 유두종유발물질을 주사한 마우스에서 LA를 정량적으로 달리한 먹이를 준비하여 투여한 결과, 높은 양을 포함시킨 먹이를 취한 마우스가 낮은 양의 경우보다 유두종의 세포수에 있어서 유의성있는 낮은 수로 나타나는 것을 관찰할 수 있었다. 그러나 이때 암발생율에는 거의 차이가 없었음도 보고하였다. Ha등¹⁷)은 benzopyrene에 의한 마우스의 발암을 LA의 유도체가 저해하고 있음을 보고하였으며 Zhu등³³)은 carcinoma를 이식시킨 마우스에서 LA를 투여하였을 시, 투여시키지 않은 대조군에 비하

여 유의성있는 생명연장효과와 carcinoma저해효과를 나타냈는데 이러한 결과를 놓고 다음과같은 제의를 하였다. 첫째, 유리지방산의 카르복실기가 암세포를 죽이는데 하나의 역할을 담당하거나 둘째, 암세포의 지방산구성을 바꾸어주는 것도 또한 LA의 항암효과와 상관관계를 갖는다는 것이다. Newman²⁷)은 carcinoma와 melanoma세포성장이 transforming growth factor-beta(TGF-beta)에 의해서 저해될 때 LA와 같은 다불포화성 지방산(polyunsaturated fatty acids, PUFAs)이 중간에 개입된다는 것을 보고하였다.

따라서 이들 지방산들은 생리학적으로 정상 혹은 악성종양세포에 상당한 독성을 발휘하는 물질로 알려져 있으며 이들의 세포독성효과는 비특이적인 방어기전 혹은, 림프구나 대식세포와 같은 세포독성을 나타낼 수 있는 작동세포들에 관련을 가져 나타낼 것으로 보여지고 있다. 근년, biological response modifier(BRM)로서 분류되고 있는 것들 중에는 면역학적 자극물질, 인터페론이나 인터페론유도인자, 림포카인이나 싸이토카인, 모노크론항체, 항원, 그리고 작동세포 등을 들 수 있겠으나 이들 물질들이 종래의 화학요법이나 방사선치료와는 전혀 다른 기전에 의해서 암세포에 장해를 줄 수 있을 것으로 전망되고 있다^{11,31}).

본 실험의 목적은 UA와 LA가 암세포에 대하여 숙주가 가지고 있는 기본방어기전인 세포성면역가운데 NK세포에 미치는 효과를 연구검토함으로서 BRM로서의 면역학적 자극물질가능성을 시험하고자 한다.

재료 및 방법

1) 실험동물

암컷 Balb/c 마우스로서 생후 8주 내외, 체중 25g 내외의 것을 한국생명공학센터(경북 대구)로부터 구입하여 실험에 사용하였다.

2) 시료

LA와 UA는 Sigma chemical Co.(U.S.A.)에서 구입하여 사용하였다.

3) 복수암세포 및 표적세포

세포독성 측정용 표적세포인 Yac-1(Moloney virus induced T lymphoma)세포주는 경희대학교 의과대학 부속병원 면역학연구소 조경삼교수로부터 분양받아 계대 배양하여 사용하였다.

4) 마우스 비장세포의 분리²⁶⁾

경부를 탈구하여 희생시킨 마우스로부터 비장을 무균적으로 적출하여 4℃의 Hank's balanced salt solution(HBSS; GIBCO, Grand Island, NY, U.S.A.)으로 2회 세척하였다. 이를 직경 60mm의 조직배양용 접시(Costar, Cambridge, MA, U.S.A.)에 옮기고 다시 신선한 HBSS를 가한 후 핀셋으로 가볍게 문질러 비장세포를 유리시켰다. 이 세포부유액을 15ml 원심관(Falcon, Oxnard, CA, U.S.A.)에 옮긴 후 2~3분동안 실온에 방치한 다음 세포부유액의 상층액을 새로운 15ml 원심관에 옮겼다. 이 세포를 300xg에서 5~10분 원심한 후 HBSS로 1회 원심세척한 다음 증류수와 10X 농축 phosphate buffered saline(PBS)를 이용하여 혼입된 적혈구를 용해한 후 HBSS로 2회 원심 세척하여 사용하였다.

5) 비장세포 배양 상층액의 준비³²⁾

4)에서와 같이 준비된 비장세포 부유액을 10%가 되게 Fetal calf serum(FCS; Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany)를 가한 RPMI 1640배지(GIBCO, Grand Island, NY, U.S.A.)(이하 10% FCS RPMI 1640으로 약함)로 5×10^6 세포/ml이 되도록 조

절하여, 이 세포 2ml당 LA를 125 μ g, UA를 2.5 μ g되게 작용시킨 다음 37℃, 5% CO₂ 부란기에서 24, 48, 72시간 배양하여 수거하였다. 이것을 300xg에서 10분간, 10,000xg에서 30분간 원심시킨 후 그 상층액을 수거하여 배양 상층액의 NK세포활성과 대식세포독성 증강 효과 측정에 사용하였다.

6) 말초혈액 단핵구 배양 상층액의 준비

에텔 마취시킨 마우스 심장으로 부터 헤파린으로 처리시킨 혈액을 채취하여 단핵구 분리작업을 하였다. 단핵구 분리는 Ficoll-Hypaque 비중원심법²⁶⁾에 의하여 분리하였다. 상기 방법으로 얻어진 단핵구를 10% FCS RPMI 1640배지로 3×10^6 세포/ml이 되게 조절하여 2ml당 LA를 125 μ g, UA를 2.5 μ g되게 작용시킨 다음 37℃, CO₂부란기에서 24, 48, 72시간 동안 각각 배양하였다. 5)에서와 같이 그 상층액을 수거하여 배양상층액의 NK세포활성 및 세포독성 증강 효과측정에 사용하였다.

7) Natural Killer 세포 활성의 측정을 위한 시험^{4,5,6,12,18,25,32)}

(1) 작동 세포(Effector cell)

4)에서 준비한 비장세포를 10% FCS RPMI 1640배지에 부유시킨 다음 75cm²의 조직배양병에 넣어 37℃, 5% CO₂부란기에서 1시간 배양한 후 가볍게 흔들어 부유된 세포(non-adherent cells)만을 수거하여 4×10^6 세포/ml로 만들어 작동세포로 사용하였다. in vitro에서 LA의 투여는 상기와 같이 준비된 세포 1ml에 대하여 12.5, 20.0, 125.0, 250.0 μ g을 각각 작용시킨 다음 4시간 후에 PBS로 3번 원심 세척한 후 사용하였다.

UA의 경우는 0.25, 0.50, 2.50, 5.00 μ g을 적용시켰다. in vivo에서 LA의 투여는 마우스 당 125 μ g을 UA는 2.5 μ g을 복강내로 투여한 후 24시간이 경과한 다음 마우스를 희생시켜 비장을 분리하였다. 각 군 당 3마리씩으로 부터 분리한 비장은 상기에서와 같이 비장세포 부유액을 만들었다. 비장세포 배양 상층액과 말초혈액 단핵구 배양 상층액이

나타내는 NK세포 활성화에 미치는 효과를 보기위한 시험은 5)과 6)에서 준비한 상층액을 각각 1/100부피되게 작동세포액에 가하였다. 즉, 작동세포 4×10^6 세포/ml인 세포 ml당 배양상층액 10 μ l를 각각 작용시켜 4시간 동안 배양한 다음 PBS로 3번 원심 세척하여 사용하였다.

(2) 표적 세포(Target cell)

표적세포로 사용한 Yac-1세포, 2×10^5 세포/0.1ml에 100 μ Ci $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ (Du Pont, Billerica, U.S.A)를 가하여 가볍게 섞어 준 후 37 $^\circ\text{C}$, CO₂부란기에서 1시간 표지화(labeling)시켰다. 표지된 세포를 10% FCS RPMI 1640배지로 3회 원심 세척한 후 1×10^5 /ml 세포되게 10% FCS RPMI 1640배지에 부유시켰다.

(3) NK세포의 활성 측정

^{51}Cr 이 표지된 Yac-1세포를 96 wells microplate(Costar, Cambridge, MA, U.S.A.)에 well당 1×10^4 세포/0.1ml 되게 분주하고, 작용자 세포와 표적 세포의 비율이 40:1이 되도록 작용자 세포를 4×10^5 세포/0.1ml되게 추가 분주하여 37 $^\circ\text{C}$, 5% CO₂부란기에서 16시간 작용시켰다. 이때 최대방출량(maximum release)를 측정하기 위해서는 1N HCl 0.1ml씩을 가하였고 자연방출량(spontaneous release)을 측정하기 위해서는 배지 0.1ml씩을 가하였다. 각 시료당 시험 well은 4개 씩 시행하였다. 작용 16시간 후 각 well의 상층액 0.1ml씩을 수거하여 gamma counter(Packard Cobra Co. U.S.A)로 유출되는 방사능을 측정하였으며, NK세포의 활

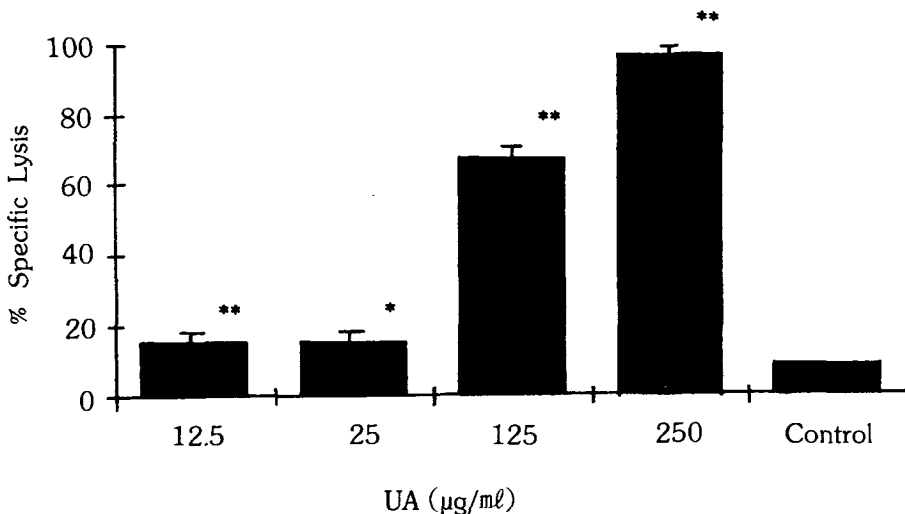


Fig. 1. Effect of linoleic acid(LA) on the cytotoxicity of natural killer cell in the spleen of Balb/c mice against Yac-1 target cell. Non-adherent spleen cells(4×10^6 cells/ml) were exposed at 12.5, 25.0, 125.0, or 250.0 μg of LA for 5hr. After 3 times washing with PBS effector cells(4×10^6 cells/ml) were suspended with Yac-1 target cells(1×10^5 cells/ml). Effector /Target cell ratio was 40/1.

* and **: significantly different from the control with $p < 0.05$ and $p < 0.005$, respectively.

성은 다음과 같이 산출하였다.

$$\% \text{ Specific lysis} = \frac{\text{c.p.m. in experiment} - \text{c.p.m. spontaneous release}}{\text{c.p.m. maximum release} - \text{c.p.m. spontaneous release}} \times 100$$

결 과

LA와 UA가 NK세포의 활성화에 미치는 효과를 보기위하여 정상마우스의 비장세포로부터 분리한 비부착성세포(non-adherent cell)를 작동세포(Effector cell)로 하고, 표적세포(Target cell)로서는 Yac-1세포에 방사성동위원소를 표지화 한 다음, 이 두 세포군을 혼합 작용시켰다. 이때 작동세포에

의해서 표적세포가 용해될 때 용출되어 나타나는 방사성물질을 counter로 감지하였다. 4×10^6 세포/ml의 세포부유액 ml당 LA를 12.5, 25.0, 125.0, 250.0 μg 을 각각 작용시켰을 때 NK세포의 표적세포살해능력은 약제를 노출시키지 않은 대조군의 9.00%에 비하여 전체 약제투여군들에서 유의성있는 상승을 나타냈으며 약제의 량에 따라 활성도가 상승함을 알 수 있었다(그림 1).

4×10^6 세포/ml의 세포부유액 ml당 UA를 0.25, 0.50, 2.50, 5.00 μg 을 각각 작용시켰을 때 NK세포활성은 5.00 μg 투여군을 제외한 모든 투여군에서 대조군보다는 투여군 상호간 비슷한 상승을 보여 유의성을 나타냈지만 LA투여군만큼은 상승하지 않았다. 또한 5.00 μg 투여군에서는 오히려 NK세포활성을 저

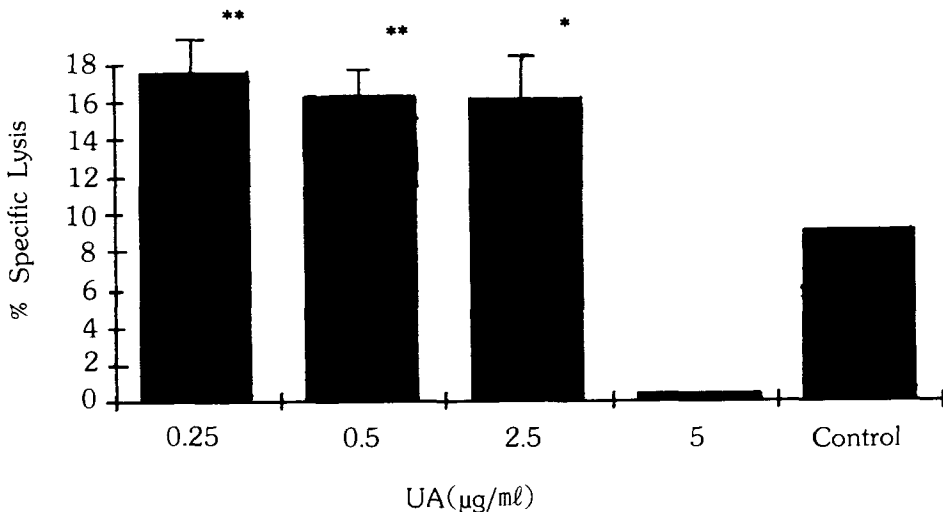


Fig. 2. Effect of ursolic acid(UA) on the cytotoxicity of natural killer cell in the spleen of Balb/c mice against Yac-1 target cell. Non-adherent spleen cells(4×10^6 cells/ml) were exposed at 0.25, 0.50, 2.50, or 5.00 μg of UA 4hr. After 3 times washing with PBS effector cells(4×10^6 cells/ml) were suspended with Yac-1 target cells(1×10^5 cells/ml). The Effector/Target cell ratio was 40/1.

* and **: Significantly different from the control with $p < 0.05$ and $p < 0.005$, respectively.

해시키는 것으로 봐서 저농도에서만 효과가 있음을 알 수 있었다(그림 2).

in vivo에서 약제로 인한 NK활성도에 미치는 효과를 보기위하여, 정상마우스 복강내로 LA는 125 μ g, UA는 2.5 μ g을 투여하여 24시간이 경과된 다음 분리한 비장세포를 작용자세포로 사용하였다. in vitro에서의 NK 세포활성증강작용과 비슷한 추이로 대조군의 7.38%와 비교하여 LA투여군은 45.27%로서 유의성이 매우 높게 나타났으며 UA투여군은 15.82%로서 유의성있는 상승을 나타냈다(그림 3).

약제를 세포나 동물에 직접 노출시켜 작동세포를 만들지 않고, 먼저 세포부유액에 약제를 작용시켜 배양했을 때 세포가 자극을 받아 분비해 내는 물질이 포함되 있을 것으로 생각이 되는 세포배양상층액을 준비하였

다. 비장세포부유액에 상기의 배양상층액을 1/100부피되게 가하여 4시간 동안 배양한 후의 세포를 작동세포로 사용하였다. 5×10^6 세포/ml의 비장세포 2ml당 LA는 125 μ g, UA는 2.5 μ g을 작용시킨 후, 24, 48, 72시간 후에 배양상층액을 수거하였다. LA에 노출되었던 배양상층액은, 대조군의 4.48%에 비하여 24시간째는 2.84%로서 오히려 그 활성이 감소하였지만 48시간째부터는 유의성있는 증강효과를 나타냈다. UA의 경우는 24시간에서 72시간까지의 시험군 모두에서 대조군보다 유의성있는 상승을 보였으며 그 중에서도 48시간째는 15.39%를 나타내어 가장 높은 상승을 보였다(그림 4).

이상의 결과는, 그림 1,2,3에서 나온 결과인 약제를 세포나 동물에 직접 작용시켰을 때 LA의 상승효과가 UA보다 높게 나타난

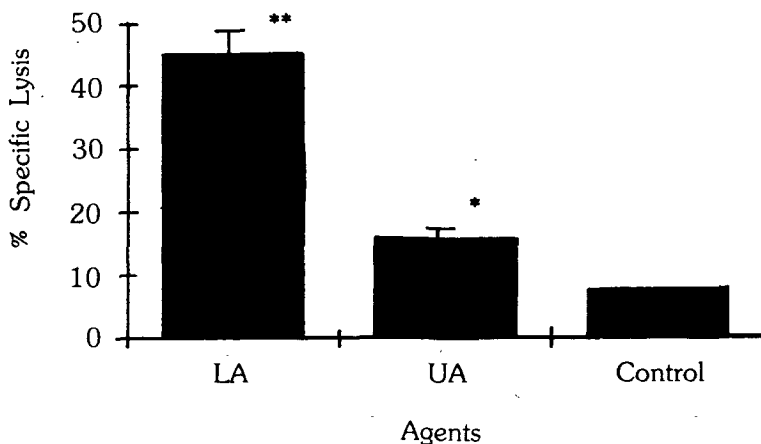


Fig. 3. Effects of linoleic acid(LA) and ursolic acid(UA) on the cytotoxicity of natural killer cell in the spleen of Balb/c mice against Yac-1 target cell. 3 mice each were injected with 125 μ g of LA, 2.5 μ g of UA, or the equal volume of buffered saline(control). After 24hr mice were sacrificed and non-adherent spleen cells were isolated. Effector cells(4×10^6 cells/ml) were suspended with Yac-1 target cells(1×10^5 cells/ml). The Effector/Target cell ratio was 40/1.

* and **: significantly different from the control with $p < 0.05$ and $p < 0.005$, respectively.

반면, LA나 UA를 작용시켜 배양한 배양상층액을 가하였을 때는 그와 반대로 UA의 상승효과가 LA보다 높은 것을 알 수 있었다.

마우스의 말초혈액내 단핵구를 분리하여 준비한 3×10^6 세포/ml의 세포부유액 2ml당 LA와 UA를 비장세포배양상층액을 준비할 때와 같은 양으로 가하여 배양한 후, 그 배양상층액을 수거하여 작용자세포에 대한 자극물질로 사용하였다. LA는 24, 48, 72시간째 모두의 상층액에서 대조군보다 높게 나타났다으며, 특히 비장세포배양상층액에서는 24시간째에 낮게 나타난 것에 비하여 이 경

우는 높게 나타남으로써 차이를 보여줬다($P < 0.005$). UA는 24시간째에 높게 나타나다가 48시간째에는 상승효과가 낮아졌으며 72시간째에 다시 상승하여 최고치를 나타냈다. 비장세포배양상층액을 작용시켰을 때에 LA와 UA의 효과가 UA쪽이 높게 나타나는 것은 혈액단핵구배양상층액을 작용시켰을 때도 마찬가지로 나타났다(그림 5).

고 찰

숙주에서 종양세포를 비롯한 병적인자에

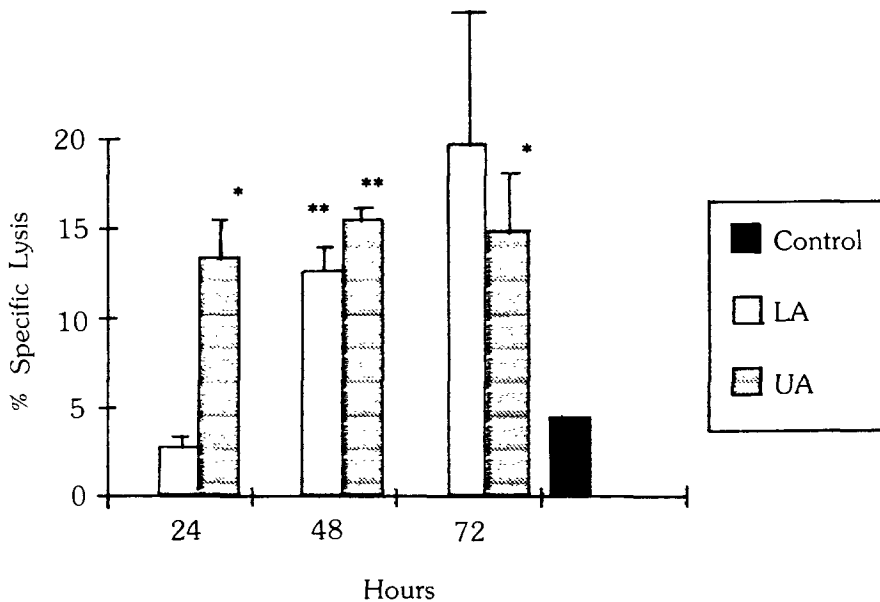


Fig. 4. Effects of linoleic acid(LA) and ursolic acid(UA) culture supernatants on the cytotoxicity of natural killer cell in the spleen of Balb/c mice against Yac-1 target cell. 2ml of spleen cells(5×10^6 /ml) were exposed to 125 μ g of LA or and 2.5 μ g of UA for 24, 48, and 72hr. Culture supernatants were harvested by centrifugation. Each culture supernatant was added to effector cells(v/v=1/100). After 4hr exposure effector cells(4×10^6 cells/ml) were suspended with Yac-1 target cells(1×10^5 cells/ml). The Effector/Target cell ratio was 40/1. * and ** : significantly different from the control with $p < 0.05$ and $p < 0.005$, respectively.

대한 방어력의 증강은 매우 긴요한 일이라 하겠다. 특히나 종양면역에서 결정적 역할을 담당하고 있는 숙주세포의 방어력을 증강시키기 위한 시도들은 수십년에 걸쳐 부단한 연구가 진행되고 있다. 숙주세포중에서도 표적세포를 살해시킬 수 있는 대식세포나 Natural Killer(NK)세포의 세포독성효과를 항진시킬 수 있는 물질들이 그동안 다수 발견되어 현재는 팔목할 만한 성과를 거두고 있다. 어떤 미생물 그자체, 미생물에서 추출한 성분이나 산물, cytokine, 특정종양세포, 특정화합물질^{4,5,8,9,13,14,16,19,20,21,22,24,28,29,34})이 세포독성을 발휘하는 세포 즉, 대식세포나 NK세포

에 작용되게 되면 세포는 활성화되고 활성화된 결과로서 signal물질의 생성과 세포독성 자체의 항진을 나타내게 된다. 본 실험에서는 in vitro에서 비장세포내 NK세포에 여러가지 농도의 LA를 노출시켰을 때 대조시험군에 비하여 크게 그 활성도가 증가하였으며 고농도에서 활성이 올라가는 dose-dependent한 결과를 보였다. 즉, 대조군에서 9.00% 활성도를 나타냈지만 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 LA량에서 16.00%를 나타냈고 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 LA량에서 96.12%로 그 활성도가 크게 증가하였다. 이와는 다르게 UA의 경우는 낮은 농도(0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$)에서 활성도가 17.52%를 나타

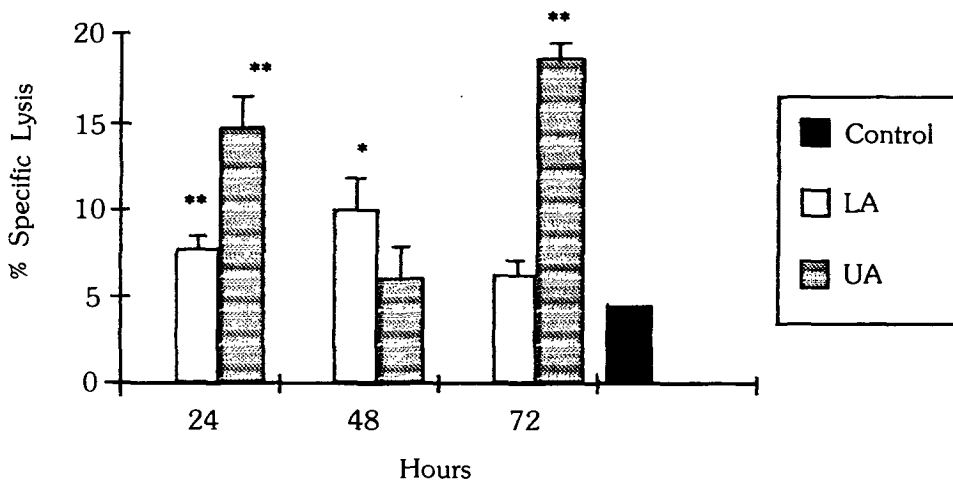


Fig. 5. Effects of linoleic acid(LA) and ursolic acid(UA) culture supernatants of peripheral blood mononuclear cell on the cytotoxicity of natural killer cell in the spleen of Balb/c mice against Yac-1 target cell. 2ml of peripheral blood mononuclear cells(3×10^6 cells/ml) were exposed to 125 μg of LA or 2.5 μg of UA for 24, 48, and 72hr. Culture supernatants were harvested by centrifugation. Each culture supernatant was added to effector cells(v/v=1/100). After 4hr exposure effector cells(4×10^6 cells/ml) were suspended with Yac-1 target cells(1×10^5 cells/ml). The Effector/Target cell ratio was 40/1.

* and **: significantly different from the control with $p < 0.05$ and $p < 0.005$, respectively.

낮고 높은 농도(5.00 μ g/ml)에서는 오히려 저해시키는 것으로 봐서 UA물질 자체의 독성이 강함을 보여줬다(그림 1,2). 이와같은 결과는 in vivo에서도 마찬가지로 결과를 보여줬다. 즉, 정상마우스복강내에 LA 혹은 UA를 투여한 후 마우스를 희생시켜 준비한 비장세포내 NK세포의 활성화에서도 LA투여군이 UA투여군보다 높게 나타났다(그림 3). 그림4에서는 미리 정상마우스의 비장세포부 유액에 LA나 UA를 작용시켜 배양한 후 그 배양상층액을 NK세포에 작용시켜 봄으로서 LA나 UA에 의해서 활성화된 세포에서 유출되어 나오는 NK세포활성물질이 생성되나를 관찰한 것이다. 그 결과, LA에 의한 배양상층액은 72시간째에 평균치가 가장 높았지만 유의성은 인정할 수 없었고 48시간째의 것은 유의성있는 상승치를 나타냈다. UA에 의한 배양상층액은 24시간째부터 유의성을 나타냄으로서 LA와의 차이를 보였으며 72시간까지 유의성을 나타냈다. 여기에서 UA는 LA보다 더 빠른 시간내에 세포를 활성화시킴을 알 수 있었다. 그렇다면 말초혈액단핵구에 LA나 UA를 작용시켜 배양했을 때 그 배양상층액이 NK세포에 미치는 효과는 어떠한 것인지에 대한 의문과 함께 실험한 것이 그림5에 나타난 바와 같다. 비장세포배양상층액과는 다른 양상을 보여준 결과로서, LA상층액이 24시간째부터 매우 유의성있는 상승효과를 보여줬고 48시간째, 72시간째도 유의성을 나타냈다. UA상층액은 24시간째에 상승효과를 보이다가 48시간째에 약간 소실되었으며 72시간째에 또 다시 항진시킴으로서 UA의 자극에 의한 세포유출물질중의 어떤 물질이 또 다시 세포를 자극하여 NK세포활성화물질을 생성했던 것으로 생각된다.

결 론

본 연구는 녹황색채소류에서 항암효과를 나타내는 활성물질로 보고되고 있는 linoleic

acid(LA)와 ursolic acid(UA)의 암세포에 대한 세포독성효과의 면역학적 해석을 갖기위하여 NK활성실험을 수행한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다. 마우스비장내 NK세포에 대한 LA나 UA의 활성증강효과는 in vitro, in vivo모두에서 유의성있게 나타났으며 LA는 양이 증가함에 따라 활성도가 증가되는 dose-dependent한 증가를 보였지만 LA는 높은 농도(5.00 μ g/ml)에서 오히려 NK세포의 활성도를 저해시켰다. 또한 LA나 UA로 노출시킨 비장세포 및 말초혈액단핵구배양상층에 의해서도 NK세포활성증강을 보였다.

이 결과는 LA가 면역계에 미치는 효과중 종양세포에 대해서 작동세포가 되고 있는 NK세포의 활성을 크게 항진시키는 것으로 생각되며 면역활성물질로서 어느 정도 그 기능을 발휘할 수 있을 것으로 예견된다.

REFERENCES

1. 박건영, 이경임, 이숙희 : 녹황색 채소류의 돌연변이유발 억제 및 AZ-521 위암 세포의 성장저해효과, 한국영양식량학회지 21 : 149, 1992.
2. 이경임, 박건영, 이숙희 : 아플라톡신 B1과 4-NQO에 대한 녹황색 채소류의 항돌연변이 효과, 한국영양식량학회지 21 : 143, 1992.
3. 이정규, 박수완, 정해영, 양한석, 서석수, 박건영 : 비파괴의 Ursolic Acid 성분의 항암작용기전, 대한암학회지 23 : 206, 1991.
4. 임수덕, 김광혁, 남상윤 : 인터페론 Alpha, Gamma 존재하에 NK세포가 암세포 파괴에 미치는 영향에 대한 연구, 대한암학회지, 15 : 1, 1983.
5. 최민준, 이정호, 소준노, 김종면 : Lentinan이 면역활성에 미치는 영향, 대한면역학회지 12 : 235, 1990.
6. 하윤문, 김광혁, 전무형, 우종설, 임수덕 : 한국정상인 말초혈액임파구의 Natural

- Killer(NK) 활성치에 관한 연구, 대한의 학협회지 24 : 503, 1981.
7. 하재청, 최은상, 류태형, 양한석, 박건영 : Sarcoma 180에 대한 약용식물 성분의 항암효과, 대한암학회지 23 : 197, 1991.
 8. Bowlin TL, Rosenberger A, Stemerick D, Edwards ML : Potentiation of natural killer cell activity and tumor immunity by diacetylputrescine. *Cancer Res* 50 : 5460, 1990.
 9. Bradner WT, Clarke DA, Stock CC : Stimulation of host defense against experimental cancer. I. Zymosan and sarcoma 180 in mice. *Cancer Res* 18 : 347, 1958.
 10. Brown RE, Steele RW, Marmer DJ, Hudson JL, Brewster MA : Fatty acids and the inhibition of mitogen-induced lymphocyte transformation by leukemic serum. *J Immunol* 131 : 1011, 1983.
 11. Cheers C, Waller R : Activated macrophages in congenitally athymic "NUDE" mice and in lethally irradiated mice. *J Immunol* 115 : 844, 1975.
 12. Bukowaki JF, Wada BA, Habu S, Okumura K, Welsh RN : Natural killer cell depletion virus synthesis and virus-induced hepatitis in vivo. *J Immunol* 130 : 1531, 1983.
 13. Denis M : Activated murine natural killer cells control growth of *Mycobacterium lepraemurium* in mouse macrophages ; in vitro and in vivo evidence. *Int J Immunopharmac* 13 : 881, 1991.
 14. Fernandez-cruz E, Halliburton B, Feldman JD : In vivo elimination by specific effector cells of an established syngeneic rat moloney virus-induced sarcoma. *J Immunol* 123 : 1772, 1979.
 15. Fischer SM, Leyton J, Lee ML, Locniskar M, Belury MA, Malve RE : Differential effects of dietary linoleic acid on mouse skin-tumor promotion and mammary carcinogenesis. *Cancer Res (SUPPL)* 52 : 2049s, 1992.
 16. Gidlund M, Orn A, Wigzell H : Enhanced NK cell activity injected with interferon and interferon inducers. *Nature* 273 : 759, 1978.
 17. Ha YL, Storkson J, Pariza MW : Inhibition of benzo(a)pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. *Cancer Res* 50 : 1097, 1990.
 18. Hana N, Burton RC : Definitive evidence that natural killer(NK) cells inhibit experimental tumor metastasis in vivo. *J Immunol* 127 : 1754, 1981.
 19. Hebert JR, Barone J, Reddy MM, Backlund JC : Natural killer cell activity in a longitudinal dietary fat intervention trial. *Clin Immunol Immunopathol* 54 : 103, 1990.
 20. Herberman RB, Nunn ME, Holden HT, Staal S, Fieu JY : Augmentation of natural cytotoxic reactivity of mouse lymphoid cells against syngeneic and allogeneic target cells. *Int J Cancer* 19 : 555, 1977.
 21. Karupiah G, Coupar BEH, Andrew ME, Boyle DB, Phillips SM, Mullbacher A, Blanden RV, Ramshaw IA : Elevated natural killer cell responses in mice infected with recombinant vaccinia virus encoding murin IL-2. *J Immunol* 144 : 290, 1990.

22. Lee SY, Kim YC : Cytocidal effect of immune lymphocyte on transplantable target tumor cells(Ehrlich Carcinoma and Sarcoma 180) in vitro. Korean J Path 4 : 91, 1970.
23. Leyton J, Lee ML, Locniskar M, Belury MA, Slaga TJ, Bechtel D : Effects of type of dietary fat on phorbol estere-
licited tumor promotion and other events in mouse skin. Cancer Res 51 : 907, 1991.
24. Markovic SN, Murasco DM : Anesthesia inhibits poly I : C induced stimulation of natural killer cell cytotoxicity in mice. Clin Immunol Immunopathol 56 : 202, 1990.
25. Merluzzi VJ : Comparison of murine lymphokine activated killer cells, natural killer cells, and cytotoxic T lymphocytes. Cell Immunol 95 : 95, 1985.
26. Mishell BB, Shiigi SM : Selected methods in cellular immunology. 1st ed. San Francisco, WH Freeman and Co., 1980. pp4-27.
27. Newman MJ : Inhibition of carcinoma and melanoma cell growth by type 1 transforming growth factor β is dependant on the presence of polyunsaturated fatty acids. Proc Natl Acad Sci USA. 87 : 5543, 1990.
28. Oehler JR, Lindsay LR, Nunn ME, Holden HT, Herberman RB : Natural cell-mediated cytotoxicity in rats. II. In vivo augmentation of NK-cell activity. Int J Cancer 21 : 210, 1978. 52)
29. Talcott PA, Exon JH, Koller LD : The effect of methylnitrosourea(MNU) on natural killer(NK) cell cytotoxicity and cytokine production in rats. Carcinogenesis 11 : 829, 1990.
30. Tokuda H, Ohigashi H, Koshimizu K, Ito Y : Inhibitory effects of ursolic and oleanolic acid on skin tumor promotion by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. Cancer letters 33 : 279, 1986.
31. Torrence PF : Biological Response Modifiers. New approaches to disease intervention. 1st ed. New York, Academic Press, 1985, pp6-18.
32. Weir DM, Herzenberg LA, Blackwell C, Herzenberg LA : Handbook of experimental immunology, 4th ed. Boston, Blackwell scientific publications, 1986, 0060.1-60.11.
33. Zhu YP, Su ZW, Li Ch : Growth-inhibition effects of oleic acid, linoleic acid, and their methyl esters on transplanted tumors in mice. J Nat Cancer Inst 81 : 1302, 1989.
34. Zolla S, Naor D, Tanapatchaiyapong P : Cellular basis of immunodepression in mice with plasmacytomas. J Immunol 112 : 2068, 1974.