

전갈(*Buthus martensi* Karsch)이 마우스 Natural Killer 세포활성에 미치는 영향

이원훈, 정지천, 김종대, 윤철호, 서운교, 신현철,
이동목¹, 송해범¹, 이항우², 남경수*

동국대학교 한의과대학 내과학교실, ¹대구대학교 자연자원대학 축산학과,
²영남대학교 이과대학 생물학과, *동국대학교 의과대학 약리학교실

Effect of *Buthus martensi* Karsch on Natural Killer Cell Activity in Mice

Woon-Hoon Lee, Ji-Cheon Jeong, Jong-Dae Kim, Cheorl-Ho Yoon,
Woon-Gyo Seo, Hyun-Chul Shin, Dong-Mok Lee¹, Hai-Bum Song¹,
Hang-Woo Lee² and Kyung-Soo Nam*

Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dongguk University;

¹Dept. of Animal Science, College of Natural Resources, Taegu University,

²College of Science, Yeungnam University and *Dept. of Pharmacology,
College of Medicine, Dongguk University, Kyongju 780-714, Korea

Abstract—The effects of *Buthus martensi* Karsch (BMK) on natural killer (NK) cell activity in mouse spleen were studied. Water extracted solution of BMK was orally administrated to Balb/c mice for 2 weeks. Among splenic cells, T cell fractions were separated by Nylon wool column. Furthermore, NK cell purification was performed 4.5% percoll gradients methods. The cytotoxicity of NK cell to K562 cell was determined by lactic acid dehydrogenase and [³H]-thymidine incorporation methods. And the cytotoxicity of effector cell was most effectively induced in a ration of 50:1 (effector/target cell). As a result, cytotoxicity of NK cells was significantly increased compared with control group both *in vivo* and *in vitro* systems. The similar cytotoxic effect was shown in [³H]-thymidine incorporation methods. This suggests that when BMK is administrated to mice with malignant tumors, an increase in NK cell activity may occur and affect K562 tumor cells.

Key words—*Buthus martensi* Karsch; natural killer cell; cytotoxicity.

전갈은 감갈과(*Buthidae*)에 속한 곤충인 전갈(*Buthus martensi* Karsch)의 건조체로 전갈독, hydroxyl amine, lecithin, cholesterol, stearic acid, trimethyl amine, betain, taurine 등을

함유하고 있다고 보고되고 있다. 또한 한의학에서는 息風止癢, 解毒散結, 通絡止痛의 효능과 中風而癱, 癩癰瘡毒 등에 응용되고 있는데 억균, 진통 그리고 특히 암세포억제작용^{1,2)} 등에 효과가 있다고 알려져 있다. 전갈의 이러한 작용은 항상성유지와 관련된 생체 면역기능의 조절과 밀접한 관련성이 있을 것으

*교신저자 : Fax 0561-770-2003

로 사러되어진다.

생체에서도 면역담당세포들 중에 암세포를 특이적으로 인식해서 다양한 반응을 일으켜 암세포를 파괴하는 역할을 담당하는 세포들이 알려져 있다. 그 중에서 T세포 및 B세포의 범주에 속하지 않으면서도 암세포를 비특이적으로 파괴하는 natural killer (NK) 세포는 1975년 Kiessling³⁾과 Herberman⁴⁾에 의해 최초로 보고되어 이 세포의 활성증가는 생체내 암 중앙면역에서 self-defense system에 중요한 역할을 담당하고 있다. 지금까지 NK세포의 활성에 미치는 연구로는 주로 천연물에서 bioactive polysaccharide를 중심으로 연구가 진행되어 왔으며, polysaccharide 혹은 oligosaccharide 들이 NK세포의 활성을 증가시켜 면역기능을 증가시키는 면역증강제로 연구되어 왔다.⁵⁻⁷⁾

본 실험에서는 polysaccharide와는 별도로 한방에서 세균증식 억제, 통증완화 그리고 암세포 억제작용이 있다고 알려진 전갈을 사용하여 물 추출물을 조제하고 이를 마우스에 일정기간 투여한 후 NK 세포의 활성에 미치는 효과를 *in vivo* 및 *in vitro*에서 조사하였기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

시약-본 실험에 사용한 시약중 Tris-HCl, RPMI 1640 및 Percoll은 Sigma사(Sigma Chem. Co., St. Louis, MO, U.S.A.), Fetal bovine serum (FBS)은 Gibco사(Gibco BRL, Life Techno. Inc., NY, U.S.A.), Nylon wool은 Wako사(Wako Chem. Co., Tokyo, Japan) 그리고 NK 세포의 활성 측정에 사용한 Kit시약은 Boehringer사(Boehringer Mannheim Co., GmbH, Germany)의 제품들을 사용하였다. 그 외에 사용한 일반 시약들은 Sigma 사 및 Wako사의 특급제품을 사용하였다.

시료의 조제-전갈은 동국대학교 경주한방병원에서 구입한 것을 정선하여 사용하였으며, 증거표본은 동국대학교 의과대학 약리학교실에서 보관중이다. 전갈 18 g을 증류수 400 ml에 넣어 회전 감압증류기로 가능한 한 저온(약 60℃)에서 2시간 추출한 다음 여과지를 사용하여 감압 여과시키고 남아 있는 미량의 침전물은 원심분리기를 사용하여 4℃에서 3,000 rpm으로 10분간 원심 분리하여 상층액을 여과멸균

하였다. 본 실험에서는 이 여과액을 원액으로하여 사용하였으며 전갈 물 추출물을 이하 전갈추출액이라 표기하였다.

실험동물 및 시료의 투여-본 연구에 사용된 실험 동물은 6주령의 암컷 ICR mouse로서 한국과학기술연구원 유전자원센터에서 구입하였다. 동물 구입 후 1주일 정도 본 대학 동물사육사에서 적응시킨 뒤 6마리를 한 군으로 하여 전갈추출액을 2배 희석하여 15일 동안 자유로이 경구로 먹도록 한 실험군과 대조군으로는 전갈대신 물을 사용하여 같은 조건으로 투여하였다.

비장의 무게 및 세포수 측정-Mouse를 경추탈골시킨 다음 70% alcohol로 전신을 소독하고 멸균 가위를 사용하여 비장을 무균적으로 적출한 다음 RPMI 1640배지가 들어 있는 샐레로 옮기고 작은 해부가위로 비장 주위의 지방조직을 면질히 제거한 다음 비장의 무게를 측정하였다. 그 다음 비장을 몇 번 자른 뒤 소독된 끝이 굵은 핀셋으로 주물러 가면서 비장속에 들어 있는 대부분의 세포를 회수한다. 세포부유액속에 포함된 적혈구는 lysis buffer(0.16 M NH₄Cl-0.17 M Tris, pH 7.2)를 5 ml 넣고 천천히 혼합 한 다음 1,200 rpm에서 5분간 원심분리하여 제거 하였다. 그 후 1회 세척한 다음 멸균된 nylon mesh(#200)를 사용하여 여과해서 다른 조직의 혼입을 제거하였으며 hemocytometer을 이용하여 세포수를 측정한 다음 각각의 실험에 사용하였다.

비장세포의 조제-비장에는 NK 세포뿐만 아니라 T 세포, B 세포, 적혈구 등 여러 종류의 세포들이 섞여 있다. 비장을 무균적으로 적출한 다음 RPMI 1640 배지가 들어 있는 샐레로 옮기고 작은 해부가위로 비장을 몇 번 자른 뒤 소독된 끝이 굵은 핀셋으로 주물러 가면서 비장속에 들어 있는 대부분의 세포를 회수한다. 적혈구는 lysis buffer로 제거하고 nylon mesh로 여과해서 10% FBS-RPMI 1640 배지에 현탁하여 다음 실험에 사용하였다.

Nylon wool column의 제작과 T 세포분획의 분리⁸⁾-Nylon wool(Wako사)을 아주 섬세하게 쪼갠 다음 0.8 g을 달아 10 ml의 주사기에 넣고 멸균시킨다. 여기에 RPMI 1640배지 10 ml를 가하여 기포를 제거시키고 column을 충분히 활성화시킨다. 이때 주사바늘은 25 gage를 사용하였으며 mouse 1마리 당 column 1개씩 만들어 실험을 행하였다. T 세포

분획의 분리하기 위하여 위에서 조제한 비장세포 부유액을 1×10^8 cells/ml로 조제한 다음 미리 준비한 nylon wool column에 천천히 주입한다. 다시 10% FBS-RPMI 1640 배지를 3 ml 더 첨가한 다음 column을 작동시키고 적당한 때에 작동을 중지 37°C에서 1시간 배양시킨다. 그후 37°C로 예온시켜 놓은 10% FBS-RPMI 1640배지 7 ml를 사용하여 column을 elution한다. 이때 유출되어 나오는 세포는 대부분 T 세포(natural killer 세포 포함)이며, 이들을 10% FBS-RPMI 1640배지로 세척하여 실험에 사용하였다. 한편, *in vitro* 실험에 사용한 NK 세포들은 정상 ICR 마우스로부터 비장을 분리하여 위와 같은 방법으로 해서 만든 각 분획 및 정제 NK 세포를 이용하였다.

Natural killer 세포의 활성측정⁹⁾ - NK 세포 활성 측정은 lactate dehydrogenase(LDH) activity와 ^3H -thymidine incorporation법⁹⁾에 의해 측정하였다. 먼저 분리한 NK 세포(effector cell)를 밀이 둥근 96 well plate에 1×10^6 cells/well되게 100 μl 씩 분주한다. 여기에 표적세포로 배양한 K 562 세포(target cell)를 1,000 rpm으로 3분간 원심 분리하여 세척하고 assay medium(1% FBS-RPMI 1640) 으로 현탁시킨 뒤 2×10^4 cells/well 되도록 100 μl 를 다시 넣는다(이때, E:T 비율을 조절하기 위해서 표적세포의 수를 1×10^4 cells/well 혹은 1×10^5 cells/well되게 넣는다). 200 μl 의 혼합액을 가볍게 흔든 뒤 37°C 5% CO₂ incubator에서 4시간 배양시킨다. 배양 후 이 plate를 1,500 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층액 100 μl 를 취한 다음 다른 plate에 옮기고 100 μl 의 반응혼합액을 각 well에다 넣은 다음 실온에서 약 30분간 차광하여 반응시킨 후 492 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 back ground control로는 assay medium만 200 μl 를 넣었으며, 양성대조군(positive control)으로는 100 μl 의 표적세포(2×10^4 cells)에다 2% Triton X-100-assay medium을 100 μl 를 첨가하였다. 음성대조군(negative control)로는 100 μl 의 표적세포에다 assay medium만 100 μl 첨가해서 사용하였다. 또한 ^3H -thymidine incorporation법에 의한 측정은 위에서 조제한 effector 세포를 10% FBS RPMI 1640배지에 1×10^6 cells/well되도록 조정하여 균등하게 넣는다.

이때 한 시료당 3 well씩 microtiter plate에 균등하게 넣는다. 다음 전갈 추출액을 배지로 희석(2배 희석=0.5, 10배 희석=0.1)해서 첨가하고 37°C 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양했다. 그 후 배양액에 target 세포를 10% FBS를 포함하는 RPMI 1640 배지에 2×10^4 cells/well되도록 조정하여 다시 넣었다. 그리고 같은 조건으로 다시 24시간 배양한다. 이어 ^3H -thymidine을 20 μl 씩(0.5 Ci/ml) 가한 다음, 다시 24시간 배양한 후 cell harvester로 세포를 흡입하고, 3번 동일한 조건으로 세척하고 filter를 실온에서 30분 정도 건조시킨 후 방사능 활성도를 liquid scintillation counter로 측정해서 NK 세포의 활성치를 구했다.

T 세포 분획에서 natural killer 세포의 정제¹⁰⁾ - 최근 Percoll 불연속밀도구배 원심법에 의해 NK 세포의 농축 및 분리가 가능하게 되었다. Percoll gradients의 조제를 위해 먼저 100% Percoll(비중 1.090, Sigma사) 100 ml, RPMI 1640배지를 50 ml를 가하고 여기에 15 ml의 FBS를 넣어 60.6% Percoll-RPMI 용액을 만든다. 다음 60.6% Percoll액을 10% FBS-RPMI 1640에 희석해서 각각 56.6, 52.1, 47.6, 43.1 및 38.6%의 Percoll액을 만들었다. 15 ml의 바닥이 둥근 tube에 조제한 각 농도의 Percoll액을 2 ml씩 천천히 넣어, 4.5%의 불연속 농도구배를 만든다. 그리고 natural killer 세포의 분리는 제조한 4.5% 불연속구배에 위의 실험에서 nylon wool column에 부착되지 않고 통과된 세포(T 세포분획) 1 ml를 조용히 엮고, 1,600 rpm에서 45분간 실온에서 원심분리를 행한다. 이때 속도는 반드시 5분간에 걸쳐서 천천히 증가되도록 하여야 한다. 원심분리가 끝나면 각각의 중간층을 순서대로 천천히 회수한다. 본 실험에서는 첫번째 중간층을 NK세포로 회수하여 10% FBS-RPMI 1640배지로 2번 세척하여 natural killer 세포 활성 측정에 사용하였다.

결 과

비장의 무게 및 세포수 측정 - 비장은 외관상 구별할 수 있을 정도로 전갈추출액을 투여한 군에서 커져 있었으며, 비장의 무게는 Fig. 1에 나타난 바와 같이 물만을 투여한 대조군보다 35% 정도 증가 하

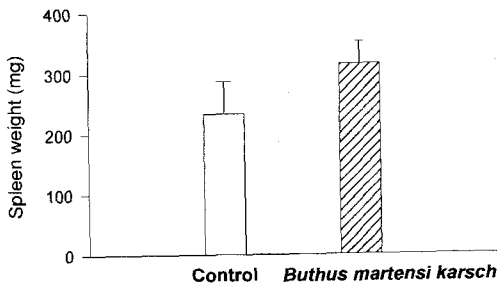


Fig. 1. Effect of *Buthus martensi* Karsch on the mouse spleen weight. ICR mouse was killed by suffocation. The abdominal skin is liberally wetted with 70% ethanol, resected well out the way and the abdominal wall cut sterile scissors to expose the spleen.

였다. 한편, 비장에서 분리한 세포의 수도 무게와 비례하게 전갈추출액을 투여한 군에서 증가함을 알 수 있었다(data not shown).

정제 전 natural killer 세포의 활성 - NK 세포는 비합식, 비흡착세포로 분리 정제의 과정에서 T 세포에 포함된다. 그래서 본 실험에서는 nylon wool column을 사용하여 흡착 B 세포를 분리하여 제거하고 T 세포 포함 NK 세포가 표적세포(암세포주, K562)에 대한 세포손상 활성을 측정하여 세포손상성(cytotoxicity)으로 그 활성을 나타내었다. NK 세포와 표적세포인 K562 세포와의 비(E/T ratio)

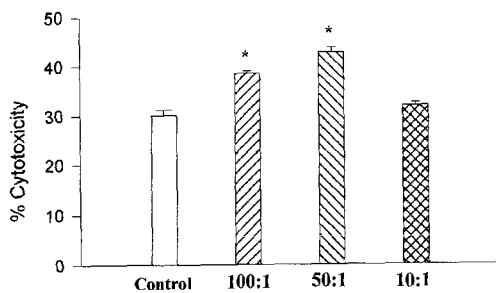


Fig. 2. Effect of effector cell/target cell (E/T) ratio on NK cell activity. NK cells (1×10^6 cells/well; effector cell) and each ratio of K562 cells (1×10^4 cells/well, 2×10^4 cells/well and 1×10^5 cells/well; target cell) were incubated at 37°C for 4 hrs. The ratio of E/T was 100:1, 50:1 and 10:1 respectively. After the microtiter plate was centrifuged at 1,500 rpm for 10 min, the supernatant was carefully transferred into corresponding wells of an optically clear 96 well flat bottom microtiter plate. Cytotoxicity of culture supernatant was measured by LDH assay. * $P < 0.01$.

를 10:1, 50:1 그리고 100:1로 하여 각각의 NK 세포 활성도를 조사하였다. Fig. 2에 나타낸 바와 같이 E/T의 비율이 50:1인 경우에서 가장 강한 NK 세포 활성이 유도됨을 알 수 있었으며, 이하 실험은 모두 그 비율을 50:1로 조정하여 행하였다. 그리고 *in vivo*에서 정제 전 NK 세포의 활성은 Fig. 3에 나타낸 바와 같이 전갈추출액의 투여로 NK 세포의 표적 세포에 대한 세포손상성은 정상군에서보다 약 34% 증가시킴을 알 수 있었다. *In vitro* 실험에서는 전갈추출액(원액)을 2배 희석(0.5), 및 10배 희석(0.1)하여 각각의 농도를 실험에 사용하였다. 원액을 투여한 군에서는 대조군에서보다 NK 세포의 활성이 56.2%, 2배 희석액에서는 44%의 증가를 보였으나, 10배 희석액에서는 6.1%로 별다른 영향을 미치지 못함을 알 수 있었다(Fig. 4).

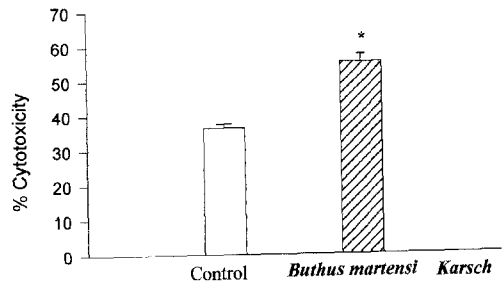


Fig. 3. *In vivo* effect of *Buthus martensi* Karsch on NK cell activity. NK cells (1×10^6 cells/well) and K562 cells (2×10^4 cells/well) were incubated at 37°C for 4 hrs. Cytotoxicity in the culture supernatant was measured by LDH assay. * $P < 0.01$.

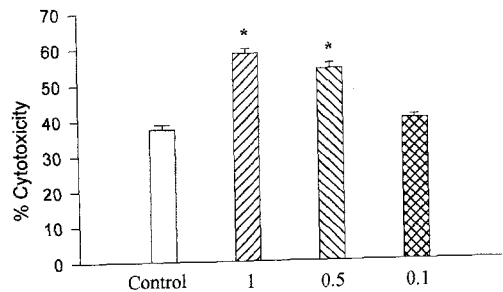


Fig. 4. *In vitro* effect of *Buthus martensi* Karsch on NK cell activity. NK cells (1×10^6 cells/well) and each diluted solution of *Buthus martensi* Karsch ($\times 1$, $\times 0.5$ and $\times 0.1$) were incubated at 37°C . After 24 hrs incubation, K562 cells (2×10^4 cells/well) were added in the well plate that was incubated NK cells. Cytotoxicity of culture supernatant was measured by LDH assay. * $P < 0.01$.

³H-thymidine incorporation법에 의한 NK 세포의 활성 측정 - 이 방법은 지금까지의 효소(LDH) 활성 측정과는 달리 NK 세포에 의해 손상된 K562 세포가 그 내부로 ³H-thymidine의 uptake를 하지 못함으로 인해 발생하는 ³H-thymidine의 양적 차이를 나타낸 것으로 NK 세포의 활성을 측정하는 또 다른 지표로 사용할 수 있다. 손상을 전혀 받지 않은 K562 세포에 uptake된 ³H-thymidine의 양을 100%로 할 때 대조군에서는 11.2% 감소하였고, 전갈추출액을 투여한 군에서는 약 42%의 감소를 보였다(Fig. 5). 이러한 결과도 전갈 추출액 투여군에서는 NK 세포의 활성이 대조군에 비해 유의성있게 증가하고 있음을 나타내고 있다.

정제 후 NK 세포의 활성 측정 - Percoll gradients를 이용하여 T 세포를 제거한 뒤, 순수 NK 세포를 이

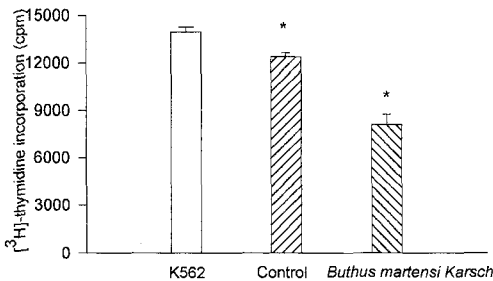


Fig. 5. Effect of *Buthus martensi* Karsch on NK cell activity measured by ³H-thymidine incorporation. Cytotoxicity was estimated by the decreased uptake of ³H-thymidine in cells. Each values represents the mean±S.E. (n=6). *P<0.01.

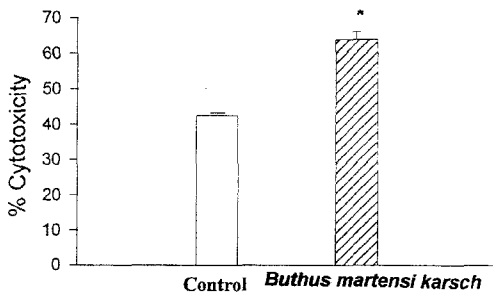


Fig. 6. Effect of *Buthus martensi* Karsch on cytotoxicity of purified NK cells *in vivo*. NK cells were purified by percoll gradients. NK cells (1×10⁶ cells/well) and K562 cells (2×10⁴ cells/well) were incubated at 37°C for 4 hrs. Cytotoxicity in the culture supernatant was measured by LDH assay. Each values represents the mean±S.E. (n=6). *P<0.01.

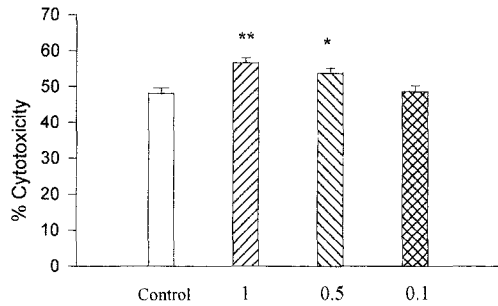


Fig. 7. Effects of *Buthus martensi* Karsch on cytotoxicity of purified NK cells *in vitro*. NK cells were purified by percoll gradients using 38.6~56.6% percoll-RPMI solution. The detail experimental procedure was indicated in Materials and methods. * P<0.05, **P<0.01.

용하여 각각의 표적세포에 대한 세포손상성을 측정하였다. *In vivo*에서 정제 후 NK 세포의 활성은 Fig. 6에 나타난 결과와 같이 정제하기 전과 유사하게 전갈추출액을 투여한 군에서는 대조군에서보다 34.4%의 NK 세포의 활성 증가가 나타났다. 정제 전과 비교해서 대조군에서는 14.6%, 전갈추출액 투여군에서는 15%의 NK 세포 활성증가가 각각 나타났다. Fig. 7에 정제 후 *in vitro*에서의 NK 세포의 활성을 측정하여 세포손상성으로 나타내었다. 전갈추출액(원액)을 투여한 군에서는 대조군에 비해 14.7%, 2배 희석액에서는 10.7% 증가하였으나 10배 희석액에서는 별다른 영향을 미치지 못하였다. 한편 정제 전과 비교해 볼 때 대조군 및 전갈추출액 각 농도군에서 정제 전보다 현저한 NK 세포의 활성이 증가되어 있음을 알았다.

고 찰

면역을 담당하는 세포는 외부에서 침입한 항원을 처리하는 macrophage와 침입한 이물질을 파괴하거나 항체의 생성을 도와주는 T 세포(cytotoxic 및 helper)를 비롯하여 다양한 항체를 만드는데 직접 관여하는 B 세포로 구성되어 있다. 흔히 말하는 면역증강물질이란 이들 3종류의 세포 즉, macrophage의 활성화 및 항원제시능력, B 세포에 있어서는 항체생성능력과 증식능력 그리고 T 세포에 있어서는 증식 및 lymphokine분비 유도등 일련의 면역응답에 관여하는 세포들의 기능을 증강시키는

것이다. 또한 비특이적 생체내 방어작용에 관여하는 NK 세포의 활성화도 종양면역응답에 중요한 지표가 되고 있다. NK 세포는 특별히 항원의 자극을 받지 않아도 종양세포 및 바이러스 감염세포에 대해서 세포손상 작용을 가지는 임파계 세포로 생체의 면역감시(immune surveillance)기전의 주역을 담당한다고 알려져 있다.¹¹⁾ 실제로 생체내에서 암세포가 발생하면 NK 세포는 자기의 종양세포의 암항원을 인식하여 세포간의 상호작용에 의하여 NK 세포로부터의 막융해 단백질인 perforin에 의하여 암세포를 파괴한다고 알려져 있다.^{12,13)} 그러나 실제로 암환자에는 NK 세포의 활성이 저하되어 있어 면역부활제 등의 투여로 NK 세포의 활성을 증가시키려는 시도가 행하여지고 있다고 보고되어 있다.^{14,15)}

본 실험에서도 전갈 추출액의 투여가 NK 세포의 활성을 증가시켜 종양세포인 K562 세포를 파괴하는 능력이 증가함을 알 수 있었어다. 活血祛瘀, 通絡止痛의 효능이 있는 전갈이 NK 세포를 활성화하여 암세포에 대한 cytotoxicity를 증가시키는지 알아보기 위하여 전갈추출액을 투여한 mouse 비장에서 비장의 크기 및 수 그리고 NK 세포의 활성에 미치는 효과를 *in vitro* system에서 조사하였다. 전갈추출액을 투여함으로 인해 비장의 크기와 수는 유의하게 증가됨을 알 수 있었다. 이것은 비장의 여러세포들 중 주를 이루는 임파계 세포에 전갈이 어떠한 영향을 미쳤다고 생각할 수 있다. 또한 전갈추출액이 마우스 NK 세포활성을 보다 더 구체적으로 입증하기 위하여 LDH법과 ³H-thymidine incorporation법에 의한 측정 결과 대조군 보다 전갈추출액 투여군이 NK 세포를 활성화시켜 이로인해 세포손상작용이 증가되었음을 간접적으로 증명하였다. 특히 T 세포(effector cell)와 K562 세포(target cell)의 비율은 50:1에서 세포손상작용이 가장 큰 것으로 나타났다. 또한 T세포에서 분리한 순수 NK 세포를 표적세포(K562 세포)에 대한 세포손상성을 측정한 결과 정제 전과 비교해 볼 때 대조군 및 전갈추출액 각 농도군에서 NK 세포의 활성이 현저하게 증가시켜 종양세포인 K562 세포를 파괴하는 능력이 증가함을 관찰하였다. 이상의 결과를 종합하면 전갈은 생체면역기능 조절과 관련하여 종양세포 억제효과를 나타내며, 특히 항암효과의 유효성에 관련하여 *in vivo*에서 보다 많은 연구가 필요할 것으로 사려된다.

결론

전갈(全蝎, *Buthus martensi* Karsch) 추출액을 마우스에 투여하여 NK cell에 미치는 효과를 *in vivo* 및 *in vitro*에서 조사한 결과 다음과 같은 성적을 얻을 수 있었다.

1. 전갈추출액의 투여(실험군)로 실험 마우스의 비장은 물을 투여한 대조군에서보다 약 35%정도 비장의 무게가 증가하였으며 이를 외관적으로 확인할 수 있었다. 또한 무게에 비례하여 비장세포의 숫적 증가도 확인되었다.

2. 비장세포에서 암세포인 K562(표적세포)세포에 대한 T 세포를 포함한 세포(effector 세포)의 세포 손상작용은 effector:target 세포의 비가 50:1인 경우에서 가장 강하게 유도되었다.

3. *In vivo* 실험에서 effector 세포의 세포손상성은 실험군에서 대조군보다 34% 증가하였다.

4. 한편, *in vitro* 실험에서는 전갈추출액 원액에서 가장 높은 활성을 보였으며 희석배율이 높을수록 세포손상성은 낮아졌으며 10배 희석액에서는 대조군과 별다른 차이점을 찾을 수 없었다.

5. Effector 세포의 K562 세포에 대한 세포손상성은 ³H-thymidine incorporation을 이용한 방법에서도 효소법에서와 유사하게 나타났다.

6. *In vivo* 실험에서 비장에서 NK세포만을 정제한 뒤 NK 세포의 세포손상성을 조사한 결과, 실험군에서 대조군에서보다 34.4% 증가하였으며, 세포손상성은 전반적으로 NK 세포를 정제하기 전보다 증가하였다.

7. *In vitro* 실험에서도 정제 후에는 실험군에서 NK 세포의 세포손상성이 14.7%의 증가를 보였으며, 또한 그 비율은 정제 전에서 보다 전반적으로 높았다.

이상과 같은 실험성적을 종합해 볼 때 전갈추출액의 투여는 마우스에서 NK 세포의 활성의 유도를 증가시키고 이로 인해 암세포인 K562 세포의 손상을 증가시키는 것으로 나타났다.

인용문헌

1. 강병수 외 (1994) 臨床配合本草學, 629-631. 永林社.
2. 楊思澍 (1990) 中醫百症用藥配伍指南, 489.
3. Kiessling, R., Klein, E. and Wigzell, H. (1975)

- "Natural" killer cells in the mouse. I. Cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells. Specificity and distribution according to genotype. *Eur. J. Immunol.* 5: 112-117.
4. Herberman, R. B., Nunn, M. E. and Lavrin, D. H. (1975) Natural cytotoxic reactivity of mouse lymphoid cells against syngeneic and allogeneic tumors. I. Distribution of reactivity and specificity. *Int. J. Cancer.* 16: 216-229.
 5. Kaneko, M., Kawakita, T., Tauchi, Y., Saito, Y., Suzuki, A. and Nomoto, K. (1994) Augmentation of NK activity after oral administration of a traditional Chinese medicine, Xiao-chai-hutang (Shosaiko-to). *Immunopharm. Immunotoxicol.* 16: 41-53.
 6. Yunoki, S., Tanaka, N., Hizuta, A. and Orita, K. (1994) Enhancement of antitumor cytotoxicity of hepatic lymphocytes by oral administration of PSK. *Int. J. Immunopharm.* 16: 123-130.
 7. Bezouska, K., Yuen, C. T., O'Brien, J., Chids, R. A., Chai, W., Lawson, A. M., Drbal, K., Fiserova, A., Pospisil, M. and Feizi, T. (1994) Oligosaccharide ligands for NKR-P1 protein activate NK cells and cytotoxicity. *Nature* 372: 150-157.
 8. Coligan, J. E., Kruisbeek, A. M., Margulies, D. H., Shevach, E. M. and Strober, W. (1991) Current protocols in Immunology. vol. 1, National Institutes of Health.
 9. Osawa, K. (1989) 續生化學實驗講座 5 免疫生化學研究法, 165-191, 東京化學同人, 東京.
 10. Mizoguchi, Y., Fujinobu, Y., Kobayashi, K., Yamamoto, S. and Morisawa, S. (1986) The effects of Xiao-Chai-Hu-Tang (Syo-saiko-to) on natural killer (NK) cell activity. *J. Tra. Med. (Japan).* 3: 184.
 11. Ortaldo, J. R. and Herberman R. B. (1984) Heterogeneity of Natural Killer Cells. *Annual Review of Immunology.* 359-394.
 12. Podack, E. R. (1986) Molecular mechanisms of cytolysis by complement and by cytolytic lymphocytes. *J. Cell. Biochem.* 3: 127-164.
 13. Ortaldo, J. R. Winkler-Pickett R. T., Nagashima, K., Yagita, H. and Okumura, K. (1992) Direct evidence for release of pore-forming protein during NK cellular lysis. *J. Leuk. Biol.* 52: 483-488.
 14. Kobayashi, M., Fitz, L., Ryan, M., Hewick, R. M., Clark, S. C., Chan, S., Loudon, R., Sherman, F., Perussia, B. and Trinchieri, G. (1989) Identification and purification of natural killer cell stimulatory factor (NKSF), a cytokine with multiple biologic effects on human lymphocytes. *J. Exp. Med.* 170: 827-845.
 15. Chan, S. H., Perrssia, B., Gupta, J. W., Kobayashi, M., Pospisil, M., Young, H. A., Wolf S. F., Young, D. Clark, S. C. and Trinchieri, G. (1991) Induction of interferon gamma production by natural killer cell stimulatory factor: characterization of the responder cells and synergy with other inducers. *J. Exp. Med.* 173: 869-879.

(1998년 8월 1일 접수)