

# B16 흑색종 세포의 폐전이에 대한 소삼산1의 억제효과

전병훈 · 김원신<sup>1\*</sup>

한의학대학 병리학교실, 1: 원광대학교 자연과학대학 생명과학부

## Inhibitory Effects of Soamsan1 on Lung Metastasis of B16 Melanoma Cells

Byung Hun Jeon, Won Sin Kim<sup>1\*</sup>

Department of Pathology, college of Oriental Medicine,  
1: Life Science Major, Division of Natural Science and Technology, Wonkwang University

We have examined whether Soamsan 1 (SA 1) augment the inhibitory effect of oral administration of Soamsan (SA) on lung metastasis of mouse B16 melanoma cells. The inhibitory effect was slightly enhanced by increase in administration dosage of SA 1. SA 1 as well as SA inhibited effectively the lung metastasis regardless of the pretreatment with anti-mouseNK monoclonal antibody. However, in the case of 2-chloroadenosine-pretreated mice, the inhibitory effects of SA and SA 1 were decreased by 18 and 23%, respectively. In vitro stimulation of the mouse splenocytes with mitogens showed that SA or SA 1 significantly augmented the proliferation of mouse splenocytes. Especially, the activity was more prominent in the presence of a B cell mitogen, LPS than a T cell mitogen, Con A. These results suggest that oral administration of SA 1 or SA inhibited lung metastasis of B16 melanoma cells, possibly through a mechanism mediated by the activation of macrophages and B lymphocytes in the host immune system. However, SA1 did not showed more significant augment of the activation of immune system than SA.

Key words : Soamsan, B16 melanoma cells, Lung metastasis, Traditional medicine, Macrophages, lymphocytes

### 서 론

각종 암의 초기발견을 위한 진단기술과 외과적 수술의 개선에도 불구하고 해를 거듭할수록 암에 의한 사망률은 증가하고 있고 암세포의 전이는 암에 의한 사망의 주요 요인이다<sup>1)</sup>. 전통 한약재와 많은 천연 추출물들이 다양한 암의 증식억제제 및 치료제로 이용하기 위하여 다양한 시도가 이루어지고 있다. 예를 들면, 율나무 (*Rhus veniciflua* Stokes)는 우리나라에서 전통적으로 항암제로 이용되어왔고, 그 추출성분인 ursolic acid는 human fibrosarcoma인 HT1080 cells에서 matrix metalloproteinase-9의 발현을 억제하여 anti-invasive 활성을 나타내는 것으로 알려져 있다<sup>2)</sup>. 육계로부터 추출된 cinnamaldehyde가 F9 teratocarcinoma cells, A549 cells, SK-OV-3 cells, SK-MEL-2 cells XF498 cells 그리고 HCT15 cells과 같은 고형암 세포들의 증식을 억제하는 것으로 보고되어 있다<sup>3)</sup>. 율나무 (*Rhus verniciflua* Stokes)에는 종양세포의 증식을 억제하는 물질이 존재하고<sup>4)</sup>, 겨우살이

(*Viscum album* var. *coloratum*)는 L1210 cells과 P388 leukemic cells의 대하여 항암효과가 있는 것으로 알려졌다<sup>5)</sup>. 또한 보중탕과 가감이중탕과 같은 전통 복합한약재가 sarcoma 180 cells과 CT-26 cells에 대하여 in vivo와 in vitro에서 항암효과가 있는 것으로 알려졌다<sup>6)</sup>. 최근 들어서는 십전대보탕과 colon 26-L5 carcinoma cells의 liver로의 암세포의 전이와<sup>7)</sup>, murine renal carcinoma cells의 폐로의 전이를 억제하고<sup>8)</sup> 보양환호탕이 항원 특이적 면역반응을 증강시킨다는 것이 보고되어<sup>9)</sup> 면역조절에 관여하는 전통 한약 복합처방에 관심이 높아지고 있다. 또한 이런 복합처방은 외과적 시술 후에 각종 화학요법, 방사선 및 호르몬 요법과 병행하여 그 치료 효과를 증대시킬 수 있을 것으로 기대되고 있다. C57BL/6 마우스의 B16 흑색종 세포를 마우스의 꼬리정맥에 주사하여 폐로 전이되는 모델을 이용하여 元氣를 補하고 解毒하며 瘀血을 해치고 抗癌作用이 있는 活絡化毒제로 알려진<sup>10)</sup> 약제 처방인 소삼산이 macrophage의 활성을 통한 암세포 전이 억제 효과를 나타내는 것을 밝혔다<sup>11)</sup>. 본 연구에서는 소삼산 처방에 황기, 대황, 현호색, 목단피, 천궁의 5가지 약제를 가미하여 소삼산 1로 정하고 이들 처방 추출액에 대한 암세포 전이 억제 효과를 비교 분석하였다.

\* 교신저자 : 김원신, 전북 익산시 신용동 344-2, 원광대학교 자연과학대학  
E-mail : wsnkim@wonkwang.ac.kr, Tel : 063-850-6578  
· 접수: 2002/07/10 · 수정: 2002/08/30 · 채택 : 2002/11/18

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물 및 시약

실험동물은 무균 상태의 C57BL/6마우스를 샘타코로부터 구입하여 계대배양하여 10-12주령의 마우스를 암, 수구별 없이 실험에 사용하였다. 시약은 Minimal essential media (MEM); trypsin versene solution (2.5%); penicillin/streptomycin/fungizone (PSF) solution (100x); fetal calf serum(FCS)는 GIBCO Laboratories로부터 구입하였다. [methyl-3H] TdR은 Amersham Pharmacia Biotech사로부터, 2-chloroadenosine은 Sigma Chemical Co.로부터 각각 구입하였다.

### 2. 종양세포

C57BL/6 마우스의 흑색종으로부터 유래된 B16 Melanoma Cells를 한국세포주은행으로부터 분양 받아 시험관내에서 Minimal Essential Medium (10% FCS)에서 배양하였다. 세포는 10 cm tissue culture dishes에 약 10 ml의 배지를 넣어 5%의 CO<sub>2</sub> incubator에서 일주일마다 계대배양 하면서 실험에 사용하였다.

### 3. 소암산 1의 추출액의 준비

본 실험에 사용한 소암산의 처방내용은 『동의치료경험집성』에 의거하였으며, 약재는 원광대학교 한의과 대학 익산 한방병원에서 구입, 정선하여 사용하였다. 처방내용은 人蔘 (30 g), 當歸 (30 g), 半枝蓮 (30 g), 白茯苓 (30 g), 白花蛇舌草 (25 g), 白朮 (20 g), 昆布 (12 g), 海藻 (12 g), 三稜 (10 g), 向日葵莖髓 (30 g), 의 소암산 처방에 황기 30g, 대황 25g, 현호색·목단피·천궁 각각 15g을 가미하여 총 건조중량 304g을 취하여 소암산 1로 정하였다. 한약재를 100g기준으로 H<sub>2</sub>O(3차) 1ℓ를 가하여 3시간 끓여서 거즈로 여과하고 3,200 rpm으로 30분간 원심분리 후 압력을 가하며 여과하여 여과액을 농축기 (Rotary evaporate)로 농축 후, tray에 담아서 -70℃의 Deep Freezer에서 12시간 이상 동결시키고, Freeze Dryer로 동결건조 시킨 것을 시료로 사용하였다.

### 4. B16 Melanoma Cells의 폐전이 억제 assay

소암산과 소암산 1 추출액의 항전이 효과를 조사하기 위하여 B16 흑색종 세포를 마우스의 꼬리정맥에 주사하여 폐로의 전이되는 모델시스템을 응용하였다<sup>15)</sup>. 간단히 요약하면, log-phase의 B16 melanoma cells은 1mM EDTA가 포함되어 있는 PBS로 분리하여 serum이 들어있지 않은 MEM으로 3번 washing하고 PBS용액으로 1×10<sup>5</sup> cells/200ul되게 희석하여 마우스 당 200ul씩 1ml syringe (29gauge needle)를 이용하여 꼬리정맥을 통하여 주입하였다. 실험 목적에 적절한 투여 기간을 선정하여 종양세포의 접종 전, 혹은 후에 한약제 추출액을 최소한 7일에서 20일 동안 경구투여로 복용시켰다. 종양세포를 접종하고 20일이 경과한 후 마우스는 도살하여 폐를 절제, 추출하고, Bouin's solution으로 고정한 후, 폐에 전이된 colonies를 해부현미경하에서 관찰하여 계산하였다.

### 5. Mitogenesis assays

소암산과 소암산 1 추출액의 immune cells에서의 mitogenic 효과를 보기 위하여 splenocytes는 mitogen을 처리하기 전에 다양한 농도의 소암산과 소암산 1 추출액을 첨가하여 24시간 동안 배양하였다. 배양액을 제거하고 5 μg/ml의 Concanavalin A (Con A) 또는 5 μg/ml의 lipopolysaccharide (LPS)가 포함되어 있는 배양액으로 교체하고 1 μCi/ml의 [methyl-3H] TdR을 첨가하고 Con A를 첨가한 세포는 24시간, LPS를 첨가한 세포는 48시간동안 배양하였다.

## 결 과

### 1. 소암산 1의 경구투여에 따른 B16 흑색종 세포의 항전이 효과

소암산과 소암산 1의 추출액에 대한 B16 흑색종 세포의 폐전이 억제 효과를 비교 분석하기 위하여 B16 흑색종 세포 (1.0 × 10<sup>5</sup> cells/200 ul)를 C57BL/6 마우스의 꼬리 정맥에 접종하였다. 세포를 접종하고 다음날부터 소암산 추출액을 매일 10 mg, 20 mg 그리고 40 mg이 되도록 PBS에 녹여 20일 동안 경구투여 하였다. 20일 후에 각각의 농도별로 처리한 C57BL/6 마우스를 도살하여 폐로 전이된 colony의 수를 계산하였다. 소암산과 소암산 1의 추출액을 매일 10 mg에서 경구투여 하였을 때는 PBS만을 경구투여 한 대조군에 비하여 각각 31%와 33%, 20 mg을 투여하였을 때는 44%와 46%, 40 mg을 처리하였을 때는 50%와 52%의 B16 흑색종 암세포 전이 억제 효과를 나타냈다. 따라서 소암산 1 추출액의 투여는 소암산을 투여했을 때와 마찬가지로 용량 의존적으로 B16 흑색종 암세포의 폐로의 전이 억제 효과를 나타내는 것으로 나타났다. 그러나, 소암산 1의 투여가 소암산의 투여에 비하여 약간의 억제효과를 나타내는 것으로 보이나 그 차이의 유의성은 없는 것으로 나타났다(Fig. 1).

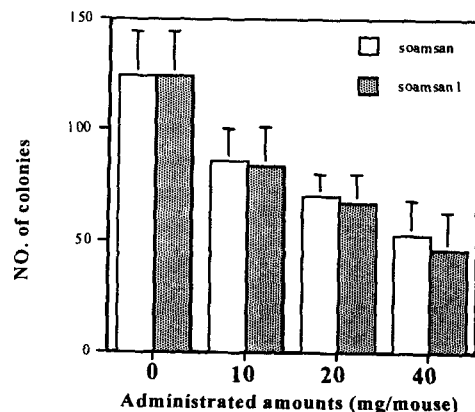


Fig. 1. Dose-dependent effect of oral administration of Soamsan 1 on experimental lung metastasis produced by the intravenous injection of B16 melanoma cells. Soamsan or Soamsan 1 at the indicated doses was orally administrated for 20 days after tumor inoculation. P 0.05 by Student's two-tailed t test.

2. Anti-MouseNK1.1 Monoclonal Antibody의 처리한 마우스에 서의 소암산 1 추출액의 B16 흑색종세포의 항전이 효과

Natural killer (NK) 세포는 macrophages, B 세포, T 세포등 과 같이 순환계에서 종양세포의 전이의 억제에 중요한 역할을 담당한다<sup>16)17)</sup>. 그러나, 소암산 추출액의 구강투여가 NK 세포의 활성화에는 별다른 효과를 나타내지 않았다<sup>15)</sup>. 소암산 1의 투여가 NK세포의 활성화에 영향을 미치는 지를 조사하였다. Anti-asialo GM1 serum은 선택적으로 NK 세포를 제거하는 것으로 알려져 있으나<sup>18)19)</sup> 본 실험에서는 NK 세포를 제거하기 위해서 Anti-asialo GM1 serum 대신에 소암산의 경우와 마찬가지로 anti-mouseNK 1.1 monoclonal antibody를 사용하였다. Anti-mouseNK 1.1 monoclonal antibody를 종양세포를 접종하기 24 시간 전에 꼬리 정맥에 주입시키고 종양세포 접종 후 20일간 소 암산 1 추출액을 투여하였다. NK 세포를 제거시켰을 때나, 제거 시키지 않았을 때나 거의 비슷한 항전이 효과를 나타내 소암산 1의 투여는 소암산의 투여와 마찬가지로 NK세포를 활성화시키 지 못하는 것으로 나타났다 (Fig. 2).

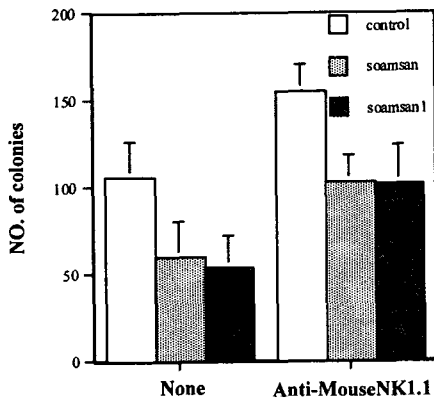


Fig. 2. Effect of Soamsan 1 on lung metastasis produced by the intravenous injection of B16 melanoma cells in C57BL/6 mice pretreated with anti-mouseNK1.1 monoclonal antibody. Five C57BL/6 mice per group were orally given Soamsan or Soamsan 1 (40 mg/day) for 7 days after tumor inoculation. B16 melanoma cells were intravenously injected into group of control mice or mice pretreated 24 h earlier with anti-mouseNK1.1 monoclonal antibody (0.1 mg/mouse). P 0.05 by Student's two-tailed t test.

3. 2-Chloroadenosine의 처리한 마우스에서의 소암산 1 추출액의 B16 흑색종세포의 항전이 효과

2-Chloroadenosine 처리에 의하여 macrophages를 제거시킨 마우스에 소암산 추출액을 처리하였을 때, 소암산 추출액의 항전이 억제효과는 현저하게 감소되는 것으로 나타났다<sup>15)</sup>. 따라서, 소암산 1의 추출액의 처리가 항전이 효과에 미치는 영향을 소암 산과 비교 분석하기 위하여 2-chloroadenosine을 처리하여 macrophages를 제거시킨 후 소암산 1을 처리하였다. 2-chloroadenosine을 처리하였을 경우에는 비 처리 대조군에 비 하여 소암산의 경우에는 18% 그리고 소암산 1을 처리하였을 경 우에는 약 23%의 항전이 억제 효과가 저하되는 것으로 나타났다 (Fig. 3). 따라서 소암산 1도 소암산과 마찬가지로 macrophages 의 활성화에 영향을 미치는 것으로 나타났다.

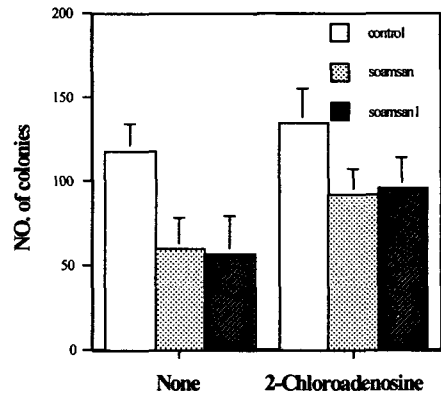


Fig. 3. Effect of 2-chloroadenosine on Soamsan 1-mediated inhibition of experimental lung metastasis produced by the intravenous injection of B16 melanoma cells. Five C57BL/6 mice per group were orally given Soamsan or Soamsan 1 (40 mg/day) for 7 days after tumor inoculation. B16 melanoma cells were intravenously injected into groups of control mice of pretreated 24 h earlier with 2-chloroadenosine (50 µg/mouse). P 0.05 by Student's two-tailed t test.

4. Mitogenesis analysis

보양환오탕이 immune system의 활성화, 특히 T세포보다 B세 포의 활성화에 영향을 미친다는 것이 보고되어 있다<sup>13)</sup>. 따라서 소 암산과 소암산 1의 추출액이 B림프구나 T림프구의 활성화에 미치 는 영향을 조사하였다. 소암산과 소암산 1의 존재하에서 mitogen 유도에의하여 마우스 splenocytes의 활성화가 유도되었다. 소암산과 소암산 1의 추출액을 100 µg/ml처리하였을 때, splenocytes의 tritium의 흡수량이 대조군에 비하여, 소암산의 경우에는 4.04배, 소암산 1의 경우에는 4.15로 나타났다. 그러나 5 µg/ml의 Con A의 존재하에서는 소암산은 1.39배, 소암산 1은 1.44배였으나, LPS의 존재하에서는 소암산은 2.3배, 소암산 1은 2.44배가 증가된 것으로 나타났다 (Fig. 4, 5).

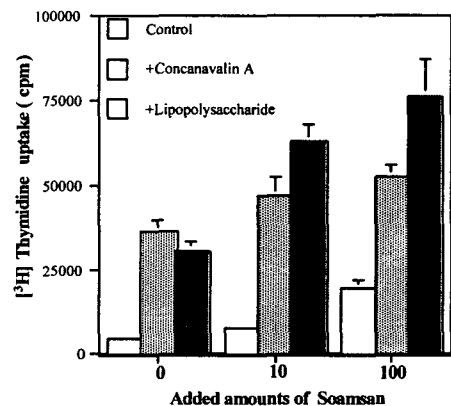
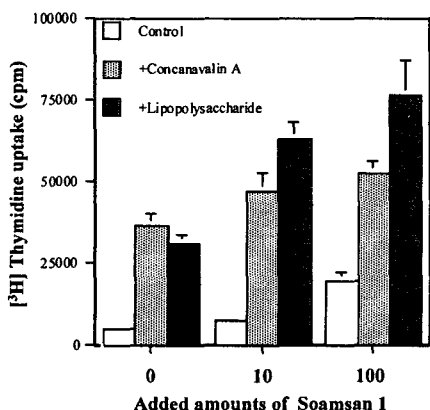


Fig. 4. The effect of Soamsan treatment on the proliferative responses of splenocytes to mitogens. Splenocytes were cultured and exposed to various concentrations of Soamsan in the presence or absence of mitogens. Proliferative responses were analyzed by [methyl-3H] TdR incorporation. Each bar represents the mean SD. P 0.05 by Student's two-tailed t test. The same experiments were repeated three times, and the figure shows a representative result.



**Fig. 5. The effect of Soamsan 1 treatment on the proliferative responses of splenocytes to mitogens.** Splenocytes were cultured and exposed to various concentrations of SA 1 in the presence or absence of mitogens. Proliferative responses were analyzed by [methyl-3H] TdR incorporation. Each bar represents the mean SD. P 0.05 by Student's two-tailed t test. The same experiments were repeated three times, and the figure shows a representative result.

따라서 소암산과 소암산 1은 림프구를 활성화시키는 물질이 포함되어 있는 것으로 보인다. 특히, 두 가지 처방 추출액은 T림프구에 대한 항원인 Con A로 유도하였을 때보다 B림프구에 대한 항원인 LPS로 유도하였을 때, splenocytes의 활성이 증강되는 것으로 나타났다.

### 고찰

본 연구에서는 활혈화지제로 알려진 한약제의 복합 처방된 소암산 처방에 황기, 대황, 현호색, 목단피, 천궁의 5가지 약제를 가미하여 소암산 1로 정하고 이들 처방 추출액에 대한 암세포 전이 억제 효과를 비교 분석하였다. 소암산 1 추출액의 경구투여하여 B16 흑색종 세포의 폐로의 전이억제 효과를 조사한 결과 소암산과 거의 유사하게 10 mg에서 40 mg까지 용량에 의존적으로 항전이 효과가 증가하는 것으로 나타났다(Fig. 1). 그러나 소암산 1은 소암산에 비하여 약간의 항전이 효과가 증가하는 것으로 나타났지만 그 증가의 정도는 유의성이 없는 것으로 보였다. 소암산 추출액이 NK 세포의 활성에는 영향을 미치지 않으나 macrophages의 활성에는 영향을 미치는 것으로 나타났다<sup>15)</sup>. 따라서 소암산 1이 NK 세포 및 macrophages의 활성을 증강시키는지를 조사하였다. 소암산 1도 소암산과 같이 NK 세포의 활성은 증가시키지 못하였지만 macrophages는 소암산과 비슷한 수준으로 증가시키는 것으로 나타났다(Fig. 2, 3). 보양환오탕이 immune system의 활성, 특히 T세포보다 B세포의 활성에 영향을 미친다는 것이 보고되어 있다<sup>13)</sup>. 따라서 소암산과 소암산 1의 추출액이 B세포나 T세포의 활성에도 영향을 미칠것으로 추정되어 in vitro 실험을 이용하여 mitogen 유도 활성의 증강의 정도를 조사하였다. 소암산의 처리에의해서는 T세포에 대한 항원인 Con A로 유도하였을 때는 1.39배, B세포에 대한 항원인 LPS로 유도하였을 때는 2.3배로 약 0.9배의 splenocytes의 활성이 증강

되는 것으로 나타났다(Fig. 4). 또한 소암산 1의 경우에는 T세포에 대한 항원인 Con A로 유도하였을 때는 1.44배, B세포에 대한 항원인 LPS로 유도하였을 때는 2.48배로 약 1.04배의 splenocytes의 활성이 증강되는 것으로 나타났다(Fig. 5). 따라서 소암산과 소암산 1은 lymphocytes의 활성을 증강시키는 것으로 나타났다. 특히, T 림프구보다는 B 림프구의 활성을 증강시키는 것으로 나타났다. 결론적으로, 소암산과 소암산 추출액의 경우투여는 B16 흑색종 세포의 폐전을 거의 유사하게 농도 의존적으로 억제하였고, 이 항전이 효과는 이들 추출액속에 숙주의 면역계의 macrophages와 B림프구의 활성을 증진시키는 물질이 포함되어 있는 것으로 보인다. 그러나 소암산 처방에 5가지의 약제를 가미한 소암산 1은 소암산에 비하여 항전이 효과가 다소 증가하였지만 그 유의성은 없는 것으로 나타났다. 그러나 소암산 1은 소암산과 함께 암세포의 전이의 억제를 위한 처방으로 적용될 수 있을 것으로 보인다.

### 결론

본 연구에서는 소암산에 5가지 약제를 가미하여 처방한 소암산 1이 소암산의 B16 흑색종 세포의 항전이 효과를 증진시키는지를 조사하였다. 소암산 1은 투여 용량 의존적으로 항전이 효과를 소암산보다 약간 증가시키는 것으로 나타났다. 소암산 1은 소암산과 마찬가지로 anti-mouseNK 1.1 monoclonal antibody처리와 관계없이 동일하게 항전이 효과를 나타냈으나, 2-chloroadenosine으로 미리 처리한 세포에서는 항전이 효과가 소암산의 경우 18%, 소암산 1의 경우에는 23% 감소하였다. 또한, 소암산 1은 mitogen으로 유도한 splenocytes의 활성을 소암산과 유사하게 증가시켰다. 특히, T 림프구의 mitogen인 Con A보다도 B 림프구의 mitogen인 LPS의 존재하에서 splenocytes의 활성을 증가시켰다. 이들 결과로부터 소암산 1의 경구투여에 의한 B16 흑색종 세포의 항전이 효과는 아마도 host의 면역계에서 B 림프구와 macrophages의 활성에 의하여 일어나는 것으로 보인다. 그러나 소암산 1은 그들 면역계를 소암산보다 유의성있게 증진시키지는 않았다.

### 감사의 글

이 연구는 보건복지부 한방치료기술연구개발사업 HMP-99-01-0003에 의해 수행되었기에 감사드립니다.

### 참고문헌

- Eisenberg, B., DeCosse, J. J., Harford, F. and Michalek, J. Carcinoma of the colon and rectum: the natural history reviewed in 1704 patients. *Cancer (Phila.)*, 49:1131-1134, 1982.
- Galandvick, S., Wieand, H. S., Moertel, C. G., Cha, S. S., Fitzgibbons, R. J., Jr., Premberton, J. H. and Wolff, B. G.

- Patterns of recurrence after curative resection of carcinoma of the colon and rectum. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 174:27-32, 1992.
3. Cha, H. J., Bae, S. K., Lee H. Y., Sato, H., Seiki, M., Park, B. C. and Kim, K. W. Anti-invasive activity of ursolic acid correlates with the reduced expression of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in HT1080 human fibroblastoma cells. *Cancer Res.*, 56:2281-2284, 1996.
  4. Beak, E. K., Kim, D. K., Lee, J. W., Kim, W. S., Jeon, B. H., Woo, W. H. and Jeong, W. Y. Anticancer effect of cinnamaldehyde purified from cinnamoni cortexextract on F9 teratocarcinoma stem cells. *Kor J Oriental Pathology*, 13(2):82-89, 1999.
  5. Kwon B. M., Lee, S. H., Choi, S. U., Park, S. H., Lee, C. O., Cho, Y. K., Sung, N. D. and Bok, S. H. Synthesis and in vitro cytotoxicity of cinnamaldehydes to human solid tumor cells. *Arch. Pharm. Res.*, 21(2):147-152, 1998.
  6. Lee, J. C, Jung, H. Y., Lim, K. T. Effects of *Rhus verniciflua* Stokes (RVS) on the plasma level of cholesterol and tumor growth in mouse. *J Toxicol Pub Health*, 15:169-175, 1999.
  7. Jung, N. C. Biological activity of urushiol and flavonoids from Lac tree (*Rhus verniciflua* Stokes). Ph.D. thesis, Chonnam National University, Kwang-ju, South Korea, 1998.
  8. Khwaja, T. A., Varven, J. C., Pentecost, S., Pande, H. Isolation of biologically active alkaloids from Korean mistletoe *Viscum album, coloratum*. *Experientia* 36:599-600, 1980.
  9. Ha, J. Y, Lim, H. J. Antitumor and immune modulatory effects of Bojungtang in ICR mice. *Kor J Oriental Pathology*, 12:90-98, 1998a.
  10. Ha, J. Y, Lee, H. Antitumor and immune modulatory effects of Gagamleejungtang in BALB/c mice. *Kor J Oriental Pathology*, 12:73-81, 1998b.
  11. Ohnishi, Y., Fujii, H., Hayakawa, Y., Sakukawa, R., Yamamura, Y., Sakamoyo, T., Tsukada, K., Fujimaki, M., Nunome, S., Komatsu, Y. and Saiki, I. Oral administration of a Kampo (Japanese herbal) medicine Juzen-taiho-to inhibits liver metastasis of colon 26-L5 carcinoma cells. *Jpn. J. Cancer Res.* 89:206-213, 1998.
  12. Muraishi, Y., Mitani, N., Yamamura, T., Fuse, H. and Saiki, I. Effect of interferon- $\alpha$  A/D in combination with the Japanese and Chinese traditional herbal medicine Juzen-taiho-to on lung metastasis of murine renal cell carcinoma. *Anticancer Res.*, 20:2931-2938, 2000.
  13. Kim, E. H., Lee, J. C., Kim, J., Son Y. O., Chung, G. H. and Jang, Y. S. Modulation of antigen-specific immune response by the oral administration of a traditional medicine, bo-*yang-hwan-o-tang*. *Immunophar. Immunotoxi.* 24: 423-440, 2002.
  14. 『東醫治療經驗集成』 第 7卷 肝胆疾病, 387等. 1997.
  15. Ju, S. M., Yang, H. H., Woo, W. H., Jeong, W. Y., Jo, W. J., Lee, K. Y., Jeon, B. H. and Kim, W. S. Oral administration of a Korean Hebal Medicines, Soamsan, inhibits lung metastasis of mouse B16 melanoma cells. *Kor J Oriental Pathology*, 15(6):1006-1010. 2001.
  16. Fidler, I. J. Macrophages and metastasis- A biological approach to cancer therapy: presidential adress. *Cancer Res.*, 45:4717-4726. 1985.
  17. Hanna, N. Role of natural killer cells and control of cancer metastasis. *Cancer Metast. Rev.*, 1:45-65. 1982.
  18. Habu, S., Fukui, H., Shimamura, K., Kasai, M., Nagai, Y., Okumura, K. and Tamaoki, N. *In vitro* effects of anti-asialo GM1. *J. Immunolo.*, 127:34-38, 1981.
  19. Saiki, I., Murata, J., Iida, J., Sakurai, T., Nishi, N., Matsuno, K. and Azuma, I. Antimetastatic effects of synthetic polypeptides containing repeated structures of the cell adhesive Arg-Gly-Asp (R-G-D) and Tyr-Ile-Gly-Ser-Arg (YIGSR) sequences. *Br. J. Cancer*, 60:722-728, 1989.