

원 저

Colon26-L5 대장암 세포를 이용한 간전이 모델에 산삼약침 처치가 혈중 cytokine에 미치는 영향

조병준* · 권기록*

* 상지대학교 한의과대학 침구학 교실

Effects of Cultivated Wild Ginseng Herbal Acupuncture to the serum cytokine on Hepatic Metastatic Model using Colon26-L5 Carcinoma Cells

Byung Jun, Cho* · Ki Rok Kwon*

* Department of Acupuncture & Moxibustion, Oriental Medical College, Sangji University

Abstract

Objective : This experiment was conducted to evaluate inhibitory effects against hepatic metastasis by cultivated wild ginseng Herbal Acupuncture.

Methods : Colon26-L5 carcinoma cells were injected through hepatic portal vein to induce hepatic metastatic cancer. After treated cultivated wild ginseng Herbal Acupuncture and investigated various kinds of cytokine level using cytokine chip.

Results : 1. Mice treated with cultivated wild ginseng Herbal Acupuncture reduced the level of IL-1 α , IL- β , and TNF- α compared to the control group.

2. Mice treated with cultivated wild ginseng Herbal Acupuncture was not showed significant change in the level of IL-4, IL-10, IL-12 and INF- γ compared to the control group.

3. Observing the level of various kinds of cytokine, cultivated wild ginseng Herbal Acupuncture was suppressed pro-inflammatory cytokine.

These findings indicate cultivated wild ginseng Herbal Acupuncture is possible to use the inflammatory disease and further studies carry out for the explanation of anticancer mechanism.

1. 緒 論

산삼약침이란 수령이 10년 전·후의 산양산삼을 증류식으로 추출한 후 한의학적 변증이론에 의거하여 경혈이나 압통점¹⁾, 혹은 血脈에 주입²⁾하여 질병을 치료하는 약침요법이다.

우리나라에서 암으로 인한 사망률은 전체 1위를 차지하고 있고, 최근 10년간 계속 증가추세에 있으며³⁾ 특히 암의 전이는 암 환자에게 있어서 사망에 이르게 하는 주요 원인이다⁴⁾. 그 중에서도 간은 위장관계통의 암 환자에게 있어서 전이가 잘 되는 장기 중 하나로, 대장암과 같은 경우 간으로의 전이가 가장 흔하게 일어나며 결과 또한 매우 치명적이다⁵⁾.

최근 산삼약침에 대한 연구가 다각적으로 시도되고 있고⁸⁻¹⁰⁾, 암과 관련한 연구 결과 또한 주목할 만하여¹¹⁾ 이에 대한 보다 심도 있는 연구가 필요한 실정이다.

본 연구는 이러한 목적을 바탕으로 colon26-L5 대장

※ 교신저자 : 권기록, 강원도 원주시 우산동 283 상지대학교 부속 한방병원 침구과 (Tel : 033-741-9257 E-mail: beevenom@paran.com)

암 세포주를 이용한 동물의 간전이 모델에 산양산삼약침(이하 산삼약침)의 항암 및 면역 작용이 어떠한 기전으로 일어나는지를 관찰하고자, 암 세포주를 생쥐의 간 문맥에 주입하여 간전이암을 유발한 후, mouse의 肝俞에 해당하는 경혈에 산삼약침을 시술하였다. 그리고 실험군과 대조군과의 면역세포로부터 분비되는 혈청 내 IL-1 α , IL-1 β , IL-4, IL-10, interferon- γ (이하 INF- γ), 그리고 tumor necrosis factor- γ (이하 TNF- γ)의 변화를 cytokine chip을 이용하여 관찰한 결과 유의한 결론을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 동물 및 재료

1) 동물

실험에 사용하기 위한 동물로는 4주령 BALB/c계 암컷 mouse를 사용하였고 대한바이오링크에서 구입하여 2주 동안 고형사료와 물을 충분히 주며 실험실 환경에 적응시킨 후 사용하였다.

2) 암세포의 준비

BALB/c계 mouse에 간전이암을 유발시키기 위한 암세포주는 colon 26-L5로 일본 토야마 의약대학 화학약

연구소에서 분양받아, 5% CO₂와 95% air의 배양기에서 37°C를 유지하며 배양하였다.

3) 배지의 준비

RPMI-1640(Gibco, U.S.A.)에 sodium bicarbonate (Amresco, U.S.A.) 2g 과 HEPES(Amresco, U.S.A.) 3.77g, penicillin-streptomycin(penicillin 10,000unit/ml , streptomycin 10,000 μ g/ml, Gibco, U.S.A.) 10ml를 증류수에 넣고 1l로 조정후 pH를 7.2로 맞추고 0.22 μ m disposable sterile bottle top filter(Corning, U.S.A.)로 여과하여 기본배지로 사용하였으며 암세포 및 비장세포의 배양 시 FBS(Fetal Bovine Serum, JRH bioscience, U.S.A.) 농도가 10%가 되도록 첨가하여 사용하였다.

4) 산삼약침의 조제

산양산삼은 산삼의 종자를 적절한 환경에서 재배한 것으로 수령은 10년 전후로, 무게는 4g내외의 것을 사용하였다. 먼저 산삼을 흐르는 물에 깨끗이 세척하여 뇌두를 제거하지 않은 200g의 산삼을 증류수와 배합한 후 2시간 전탕하여 찌꺼기는 따로 분리하고, 전탕액을 무균실에 있는 증류추출기에 넣고 전탕하여 1,000cc의 약침을 얻었다. 얻어진 약침을 0.45 μ m, 0.2 μ m여과지로 2회 여과한 후, 멸균된 용기에 일정 용량 주입하였고, 밀봉하여 멸균기에 다시 멸균과정을 거친 후 시료를 준비하였다.(Fig. 1~3)

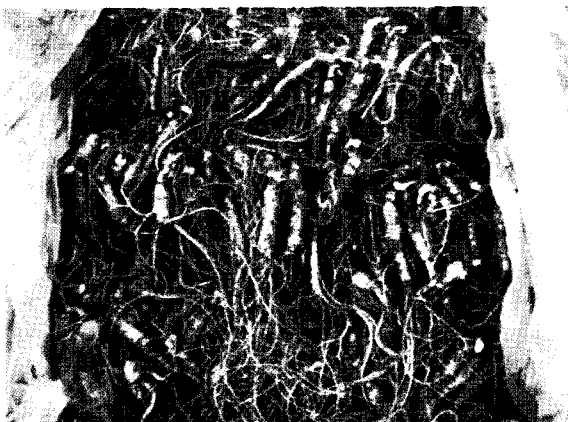


Fig. 1 Cultivated wild ginseng for Herbal Acupuncture

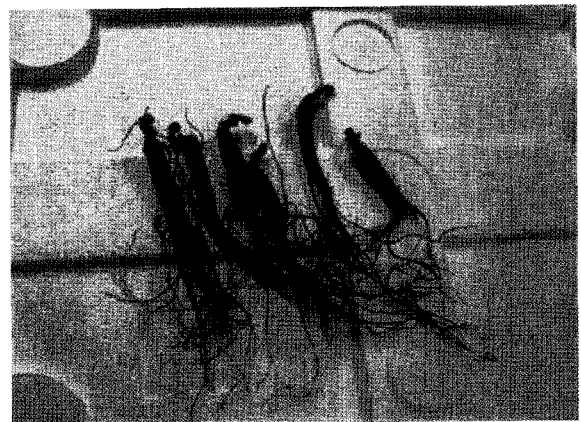


Fig. 2 The various shapes of cultivated wild ginseng.

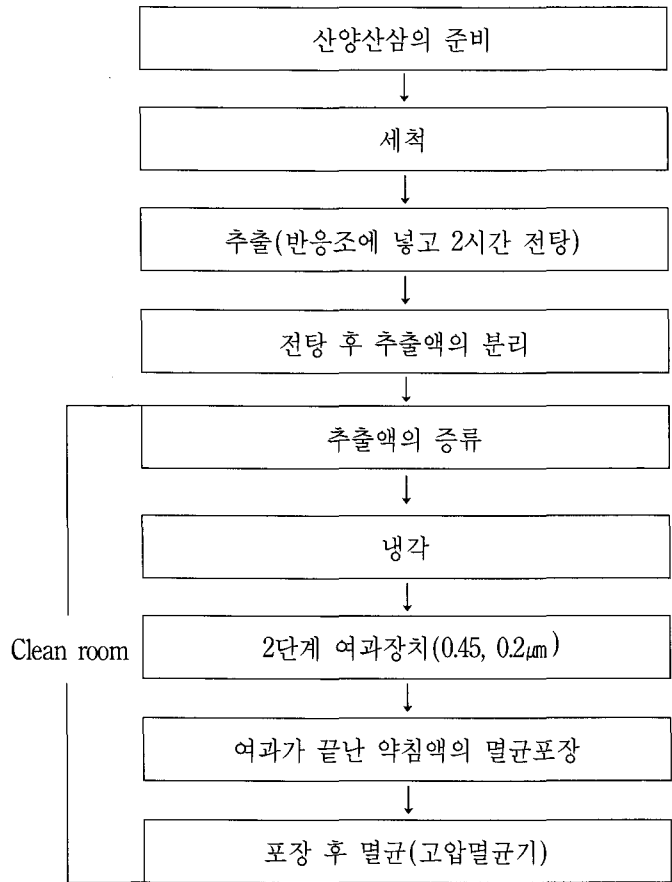


Fig. 3 Manufacturing process of distilled cultivated wild ginseng Herbal Acupuncture

2. 방법

1) Colon26-L5 암세포주를 이용한 간전이 모델

가. 산삼약침에 의한 암전이 억제 효과

실험적 간전이 모델은 Ohnishi 등¹²⁾의 방법에 준하였다. 실험군(산삼약침 시술군)과 대조군으로 그룹을 나누고 in vitro상에서 배양한 colon26-L5 대장암세포를 1×10^6 cells/ml이 되도록 세포현탁액을 만들어 14~16g의 BALB/c계 mice를 개복한 후 1×10^4 cells/0.1 ml을 간문맥을 통하여 주사하였다. 간문맥으로 주사된 대장암 세포는 간에 전이암을 형성하게 된다. 암세포 주사 다음날부터 20일 동안 매일 兩肝俞穴에 각각 0.1 ml 씩 총 4.0 ml의 산삼약침을 각각 주입하였고 대조군은 PBS(phosphate-buffered saline)를 주사하였다.

나. 채혈 및 혈청의 분리

약침처리를 시작한지 20일이 지난 다음날 mouse를 diethyl ether로 마취한 후 복대정맥에서 1 ml 내외의 혈액을 채취하여 원심분리기(Hanil. Co., HRT-601V)에서 2,000rpm으로 15분간 분리하여 상층에 모아진 혈청을 EDTA 용기에 담은 후 실험에 사용하였다.

다. Cytokine 생산능 조사

보관된 혈청을 cytokine chip(ProteoPlex™ 16-well Murine Cytokine Array, U.S.A.)을 사용하여 측정하였다. 본 cytokine chip은 16개의 well이 있고, 각 well에는 Fig. 4와 같은 spot이 있으며 1개의 well이 40개의 ELISA를 한 것과 같은 결과를 얻을 수 있다(Fig. 4). 1개의 chip으로 10개의 cytokine에 대하여 4배수씩 실험을 진행할 수 있으며 소량의 혈청으로 여러 종류의 cytokine을 분석할 수 있는 장점이 있어서 이를 선택하여 시행하였다.

3. 통계처리

실험에 사용한 통계프로그램은 SPSS 10.0을 사용하였고 student-t test를 시행하여 p-value가 0.05 미만인 경우 유의성이 있는 것으로 하였다.

III. 結果

1. Cytokine chip의 분석

ProteoPlex™ 16-well Murine Cytokine Array를 이용하여 수종의 cytokine을 비교 분석하였다. 본 chip에는 Cy5라

는 형광물질이 cytokine의 2'nd anti-body에 tagging되어 있어서 특정 파장을 주어 발생하는 빛을 scanner로 인식하여 값을 계산하였다(Fig. 5-6).

2. Cytokine 생산능 조사

1) IL-1 α

정상군에서는 62.3 \pm 10.5 pg/ml를, 대조군에서는 49.7 \pm 7.9 pg/ml를 나타내었고, 산삼약침군에서는 27.4 \pm 4.6 pg/ml를 나타내어 대조군에 비하여 유의한 감소를 나타내었다(Fig. 7).

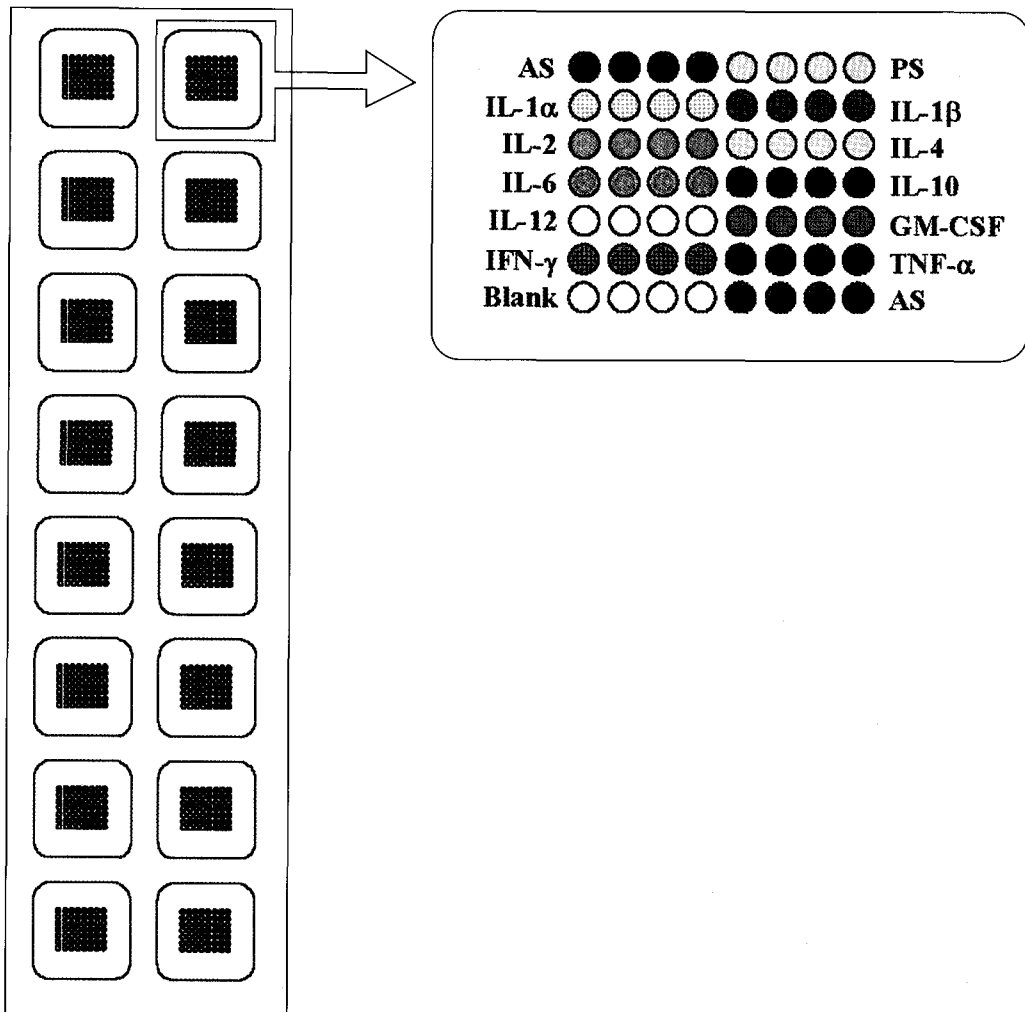


Fig. 4 The shape of ProteoPlex™ 16-well Murine Cytokine Array

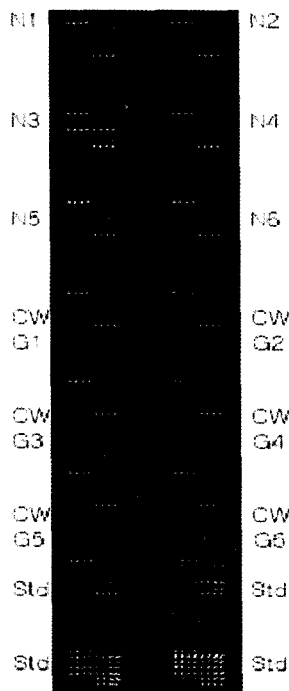


Fig. 5 Analysis of various kinds of cytokine using ProteoPlex™ 16-well Murine Cytokine Array
N; normal group, CWG; Cultivated wild ginseng Herbal Acupuncture group

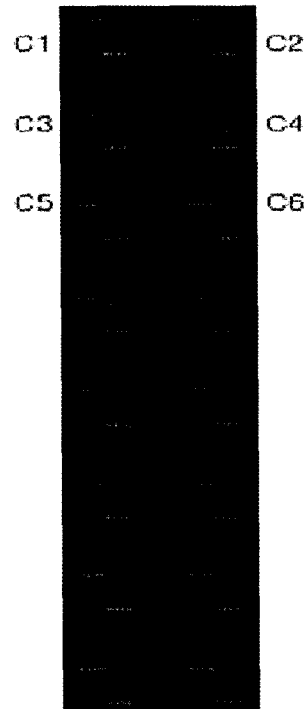


Fig. 6 Analysis of various kinds of cytokine using ProteoPlex™ 16-well Murine Cytokine Array
C; control group

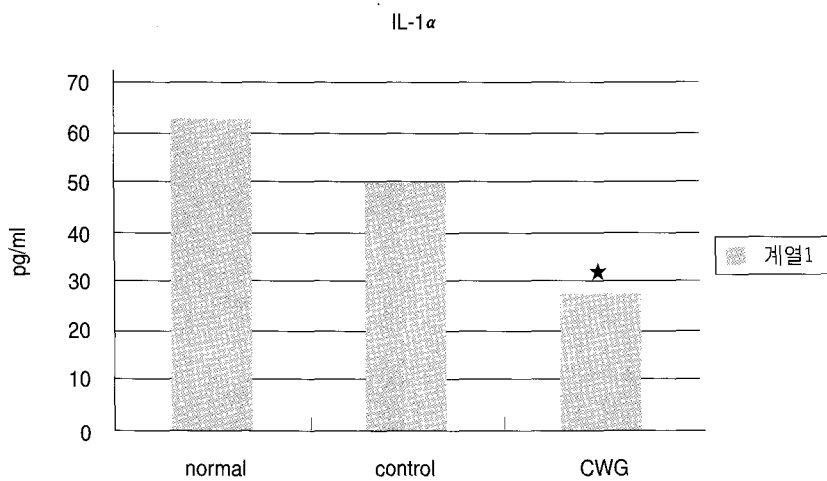


Fig. 7 Concentration of IL-1 α in each groups(pg/ml)
Cultivated wild ginseng Herbal Acupuncture group(CWG) was lower than control group(* p<0.05)

2) IL-1 β

정상군에서는 94.2 \pm 20.1 pg/ml를, 대조군에서는 90.3 \pm 12.7 pg/ml를 나타내었고, 산삼약침군에서는 45.6 \pm 10.0 pg/ml를 나타내어 대조군에 비하여 유의한 감소를 나타내었다(Fig. 8).

3) IL-4

정상군에서는 170.4 \pm 35.6 pg/ml를, 대조군에서는 203.1 \pm 22.1 pg/ml를 나타내었고, 산삼약침군에서는

143.0 \pm 20.7 pg/ml를 나타내어 대조군에 비하여 감소하는 경향을 나타내었으나 유의성은 인정되지 않았다 (Fig. 9).

4) IL-10

정상군에서는 167.1 \pm 44.3 pg/ml를, 대조군에서는 227.3 \pm 32.9 pg/ml를 나타내었고, 산삼약침군에서는 185.7 \pm 46.4 pg/ml를 나타내어 대조군에 비하여 감소하는 경향을 나타내었으나 유의성은 인정되지 않았다 (Fig. 10).

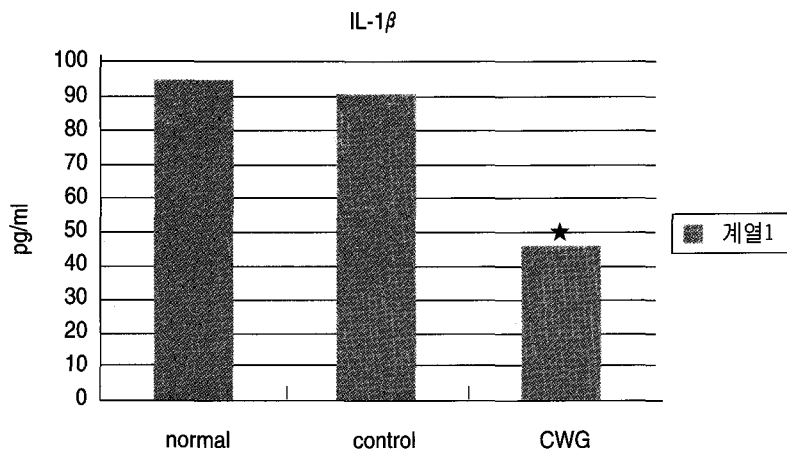


Fig. 8 Concentration of IL-1 β in each groups(pg/ml)
Cultivated wild ginseng Herbal Acupuncture group(CWG) was lower than control group(* p<0.05)

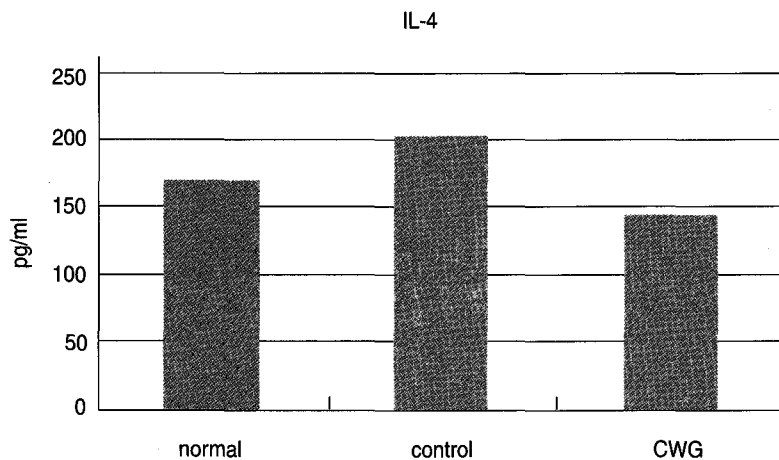


Fig. 9 Concentration of IL-4 in each groups(pg/ml)
Cultivated wild ginseng Herbal Acupuncture group(CWG) was not showed significant compared with control group.

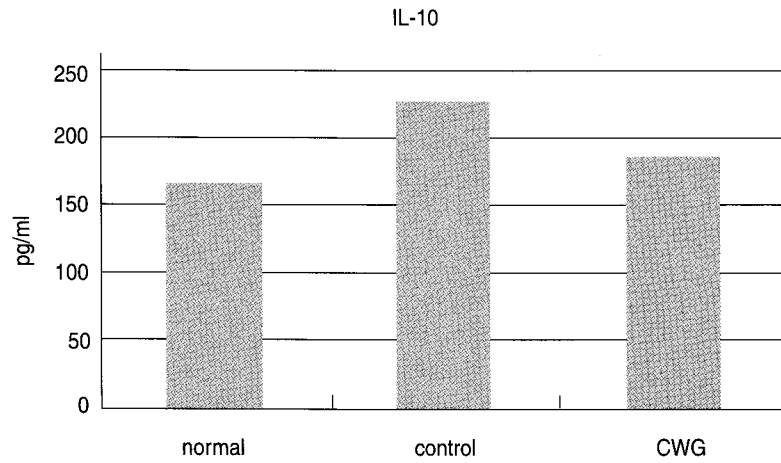


Fig. 10 Concentration of IL-10 in each groups(pg/ml)
Cultivated wild ginseng Herbal Acupuncture group(CWG) was not showed significant compared with control group.

5) IL-12

정상군에서는 90.2 ± 12.1 pg/ml를, 대조군에서는 19.8 ± 4.6 pg/ml를 나타내었고, 산삼약침군에서는 25.2 ± 3.5 pg/ml를 나타내어 대조군에 비하여 증가하는 경향을 나타내었으나 유의성은 인정되지 않았다(Fig. 11).

6) INF- γ

정상군에서는 501.3 ± 100.2 pg/ml를, 대조군에서는 443.8 ± 138.7 pg/ml를 나타내었고, 산삼약침군에서는 405.4 ± 122.4 pg/ml를 나타내어 대조군에 비하여 감소하는 경향을 나타내었으나 유의성은 인정되지 않았다(Fig. 12).

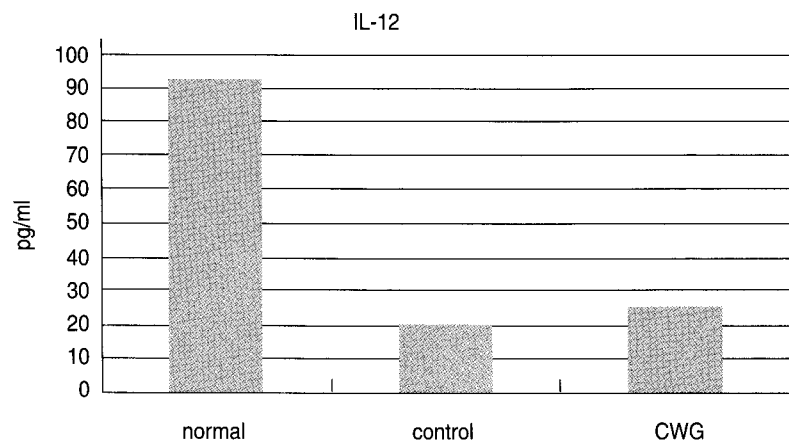


Fig. 11 Concentration of IL-12 in each groups(pg/ml)
Cultivated wild ginseng Herbal Acupuncture group(CWG) was not showed significant compared with control group.

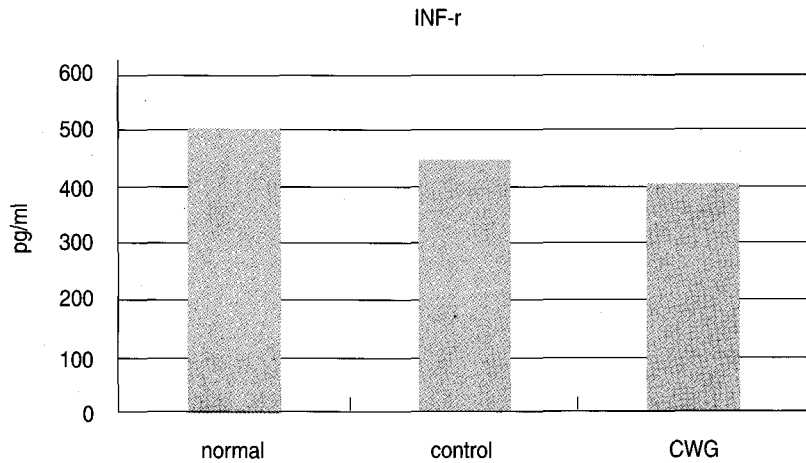


Fig. 12 Concentration of INF- γ in each groups(pg/ml)
Cultivated wild ginseng Herbal Acupuncture group(CWG) was not showed significant compared with control group.

7) TNF- α

정상군에서는 146.4 \pm 12.5 pg/ml를, 대조군에서는 142.7 \pm 21.0 pg/ml를 나타내었고, 산삼약침군에서는 25.5 \pm 7.8 pg/ml를 나타내어 대조군에 비하여 유의한 감소를 나타내었다(Fig. 13).

IV. 考 察

암이란 체세포의 조절기전의 손상으로 인하여 세포의 증식이 계속적으로 일어나는 병적 상태를 말한다¹³⁾.

많은 형태가 있으나 특정 장기에 고형의 종양으로 나타나는 경우가 많고, 피부, 유방, 폐, 장, 그리고 전립선 등에 흔하게 나타난다. 암이 양성 종양과 다른 점은 주변조직으로 침투해 들어가서 그 조직을 파괴시키거나 혈액이나 임파절을 타고 멀리 떨어진 지역으로 전이될 수도 있다는 것이다.

대장암은 우리나라에서 4번째로 흔한 암으로 진단 당시 이미 환자의 약 15~20%는 간으로의 전이를 동반하고 있으며, 계속적으로 환자의 60%에서 간으로의 전이가 발생한다. 이렇게 간은 가장 흔하게 대장암의 전이가 발생하는 장기로, 치료하지 않은 경우 평균 생존기간은 3.7개월~11개월 정도로 간전이의 발생 및 전이는

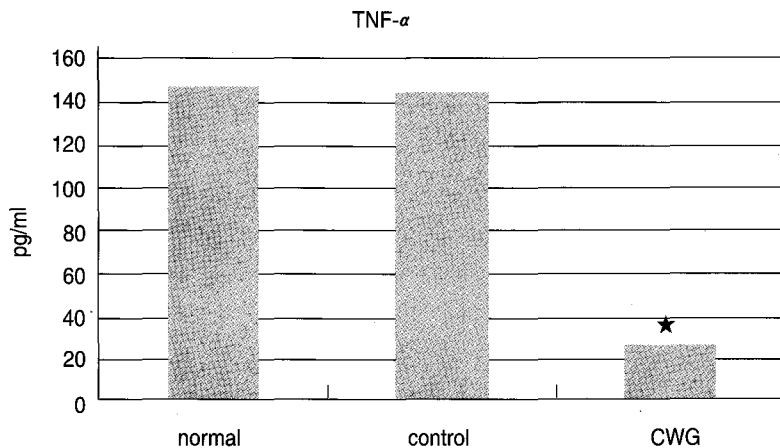


Fig. 13 Concentration of TNF- α in each groups(pg/ml)
Cultivated wild ginseng Herbal Acupuncture group(CWG) was lower than control group(* p<0.05)

환자의 생존에 영향을 미치는 중요한 요인이 된다⁵⁷.

山蔘의 性은 微寒, 微溫, 溫 등으로, 味는 甘, 苦 등으로 표현되고 있으며, 補五臟, 安精神, 定魂魄, 止驚悸, 除邪氣, 明目, 開心, 益智, 久服輕身延年 등의 효능이 있다¹⁴고 기록되어 있다. 자연에서 자생한 산삼은 비록 효능은 인삼보다 우수하다고 추정되지만¹⁵ 희귀성과 고가로 인해 약재로 사용하기가 어려운 실정인지라, 그 대체 약물로서 산삼의 씨앗을 산속에 뿌려 키운 山養山蔘이 주목을 받고 있다.

최근 권 등¹⁶은 이러한 산양산삼을 이용한 약침연구를 시행하여 독성, 안전성 실험과 시험관 내 시험, 인삼과 산양삼의 효능 비교, 혈당 강하 및 항암효과와 관련하여 유의한 결과를 보고한 바 있다.

그동안 많은 연구를 통하여 인삼은 어느 정도 암을 예방하는 효과가 있고¹⁶, 암 환자의 면역기능을 향상시켜 삶의 질을 높이는데 기여하며¹⁷ 특히 항암제와 같이 복용할 때에는 항암효과를 더욱 우수하게 하는 상승작용을 지니고 있음이 보고된 바 있다¹⁸.

그러나 산삼이나 산삼약침에 대한 연구보고는 많지 않았고, 특히 전이암에 대한 연구는 보고된 바 없었다. 따라서 산삼약침이 Ohnishi 등¹⁹의 방법에 의한 간전이 모델에 어떠한 영향을 미치는지 그 변화를 관찰하고자 colon26-L5 암세포주를 생쥐의 간문맥에 주입하여 간전이암을 유발하고 산삼약침을 시술하였다. 시술이 종료한 후 혈청을 채취하여, ProteoPlex™ 16-well Murine Cytokine Array를 이용해 수종의 cytokine을 비교 분석하였다.

면역세포들은 골수에서 유래되며, 골수 또는 가슴 샘에서 성숙된다. 이와 같이 면역세포들이 성숙, 분화되는 장소를 일차림프구라 하며, 성숙된 림프구들이 항원과 반응하여 면역반응이 시작되는 장소를 이차림프구라 하는데 림프절과 함께 비장이 이에 해당된다. 림프계 세포인 림프구는 획득면역의 중추적 역할을 하는 세포로 면역반응의 특성인 나와 남의 구별, 특이성, 다양성, 그리고 면역기억을 가진다. 림프구는 성숙된 중추림프구에 따라 B림프구와 T림프구로 구별되는데, B림프구는 항체매개 면역반응에 관계하며, T림프구는 세포매개 면역반응에 관계한다²⁰.

면역반응은 항원에 의해 시작되는데 이때에 CD4+ T 세포의 도움이 필요하다²⁰. CD4+ T helper림프구는 cytokines의 양상에 따라 T helper 1(Th 1)과 T helper 2(Th 2)로 구분 된다²⁰. 이 두 세포는 모두 Th림프구 전구세

포로부터 분화되는데 분화를 결정하는 요인은 유전적 요인과 항원의 유입경로, 항원의 물리적 변형, 항원의 양 등의 환경적 요인으로 구분된다. 이러한 환경적 요인이 Th림프구의 주변 환경에 존재하는 cytokines를 결정하여 Th 1과 Th 2로 분화를 유도한다²⁰. IL-2, IFN- γ , TNF- α , IL-12의 생성은 Th 1 세포성 면역반응에 관여하고 있는 반면에, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10의 생성은 Th 2 체액성 면역반응에 관여한다^{23,24}.

이 중 IL-1은 면역과 염증 반응 그리고 상처 회복 등 여러 가지 작용을 하는데 그 기능에 따라 IL-1 α 와 IL-1 β 로 나누며 pro-inflammatory cytokine으로 알려져 있다²⁵. 본 연구결과 산삼약침군은 대조군에 비하여 IL-1 α 와 IL-1 β 를 유의하게 감소시켰음을 알 수 있었다(Fig. 7-8).

IL-4는 많은 세포활성 물질과 마찬가지로 다양한 경로로 다양한 표적세포에 영향을 주며, 항체생성, hematopoiesis, 염증조절 그리고 T세포반응을 발달시키는데 중요한 역할을 하는 prototypic 면역조절 세포활성 물질이다²⁶. 본 연구결과 산삼약침군은 대조군에 비하여 감소하는 경향을 나타내었으나 유의성은 인정되지 않았다(Fig. 9).

IL-10은 면역 및 염증 억제능력이 있는 cytokine으로 Th2 세포, 비만세포, 대식세포 및 단핵구로부터 분비되며 IL-1 α 와 IL-1 β , IL-6, IL-8 및 TNF- α 등 여러 종류의 cytokine 생성 및 분비를 억제하는 작용이 있다²⁷. 본 연구결과 산삼약침군은 대조군에 비하여 유의한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 10)

IL-12는 대식세포와 B 세포에서 분비되어 T 세포와 NK 세포에 작용하는데 그 기능은 첫째, NK 세포를 활성화시켜 세포용해능력을 증가시키고, NK 세포의 growth factor가 되며 INF- γ 생산을 유도한다²⁸.

둘째, T 세포의 증식을 촉진시키고 INF- γ 생산을 유도하며, 셋째 naive helper T 세포를 T helper type 1 cell(Th1)으로 분화시킨다. 본 연구결과 산삼약침군은 대조군에 비하여 증가하는 경향을 나타내었으나 유의성은 인정되지 않았다(Fig. 11).

IFN- γ 는 면역에 기여하는 다양한 생리적 반응을 유도하고, 미생물의 병원균의 침입에 대항해서 숙주를 방어할 수 있는 세포활성 물질로²⁹, 본 연구에서 산삼약침군은 대조군에 비하여 유의한 변화를 나타내지 않았다(Fig. 12).

TNF- α 는 종양괴사인자로 대식세포, T 세포, 자연살해세포 등에서 이루어지며 그 양에 따라 작용이 달라진

다⁹⁾. 즉 소량 및 생리적 농도일 때에는 백혈구와 상피 세포 조절기능을 하고, 효율적인 염증반응을 유발시켜 숙주를 보호한다. 그러나 인체에서 다량으로 생산되거나 투여할 경우 숙주에 치명적인 피해를 유발한다. 본 연구결과 산삼약침군은 대조군에 비하여 TNF- α 를 유의하게 감소시켰음을 알 수 있었다(Fig. 13).

이상의 내용을 종합해보면 colon26-L5 암세포주를 이용한 간전이 모델을 통하여 산삼약침 처치 후 혈청 중 수종의 cytokine을 분석한 결과, 특히 pro-inflammatory cytokine으로 알려져 있는 IL-1 α 와 IL-1 β , 그리고 TNF- α 를 유의하게 감소시켰음을 알 수 있었다. 이는 염증 반응을 주스로 하는 질환에 유효할 수 있음을 시사하는 것으로 향후의 산삼약침연구에 새로운 방향성을 제시할 수 있지 않을까 추정되었다. 그러나 산삼약침이 Th 1과 Th 2에 따른 선택적 작용 기전을 나타내지는 않는 것으로 평가되었고 이에 대한 작용기전의 확립은 보다 심도 깊은 연구를 통하여 진행되어야 할 것으로 사려된다.

V. 結 論

Colon26-L5 대장암 세포주를 생쥐의 간문맥에 주입하여 간전이암을 유발한 후 산삼약침의 항암효과에 대한 혈청 내 cytokine을 분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 산삼약침 시술군은 대조군에 비해서 IL-1 α , IL-1 β 그리고 TNF- α 의 양이 유의하게 억제되었다.
2. 산삼약침 시술군에서 IL-4, IL-10, IL-12 그리고 INF- γ 의 양은 대조군에 비하여 유의한 변화를 나타내지 않았다.
3. 산삼약침 시술군에서 pro-inflammatory cytokine을 공통적으로 억제하고 있음을 알 수 있었다.

이상의 결과로 보아 산삼약침은 염증 반응을 나타내는 면역계 질환에 유효할 것으로 추정되며 암세포의 작용기전에 대한 연구는 앞으로 다양한 연구가 수행되어야 할 것으로 사려되었다.

參考文獻

1. 대한약침학회. 약침요법 시술 지침서. 서울: 대한약침학회. 1999 ; 13-14, 112-118, 138-203.
2. 손인철 외. 약침요법. 일지사. 1999 ; 17-18.
3. Ministry of health and welfare. national nutrition survey report. 2003.
4. 류재현, 김광호, 심강섭, 박응범, 서정수. 대장직장암의 전이성 간암에 대한 항암색전술. 대한외과학회지. 2000 ; 58(1) : 109-114.
5. Cascino S, Walder S. Chemo-embolization in the treatment of liver metastases from colorectal cancer. Cancer Treatment Reviews. 1996 ; 22 : 355.
6. Isenberg J, Fischbach R, Lruer I, Keller HW. Treatment of liver metastases from colorectal cancer. Anticancer Reserch. 1996 ; 16 : 1291.
7. 선병호, 안병권, 김병수, 김만기, 김지현. 원발성 및 전이성 간암에 대한 외과적 항암 Lipiodol 색전술. 대한외과학회지. 1996 ; 50(10) : 47.
8. 권기록, 조아라, 이선구. 정맥주입용 산양산삼 증류약침의 급성, 아급성 독성 실험 및 Sarcoma-180 항암효과에 관한 실험적 연구. 대한약침학회지. 2003 ; 6(2) : 7-27.
9. 권기록. 정맥주입용 산삼약침이 인체에 미치는 영향에 관한 임상적 연구. 대한약침학회지. 2004 ; 7(1) : 15-26.
10. 곡경승, 이선구, 권기록. pH 및 전해질 조절 산양산삼 증류약침의 apoptosis에 관한 실험적 연구. 대한침구학회지. 2004 ; 21(6) : 1-17.
11. Ki-Rok Kwon, Chi-Wan Park, Min-Soo Ra, Chong-Kwan Cho. Clinical Observation of Multiple Metastatic Cancer Patient with Hepatocellular Carcinoma treated with Cultivated Wild Ginseng Herbal Acupuncture Therapy, J. of Korean Acupuncture & Moxibustion Society, 2005 ; 22(2) : 211-217.
12. Ohnishi Y, Sakamoto T, Fujii H et al. Characterization of a liver metastatic variant of murine colon 26 carcinoma cells. Tumour Biol. 1997 ; 18 : 112-122.
13. David R. Goldman. Complete Home Medical Guide. DK publishing, INC, 2003 ; 274-277.
14. 單書健, 神農本草經校證, 吉林科學技術出版社. 1988 ; 150.

15. 김성진, 신순식, 서부일, 지선영. 산삼, 장뇌삼, 인삼의 항암효과에 대한 비교연구. 대한본초학회지. 2004 ; 19(2) : 41-50.
16. Yun, T. K., Choi, S. Y. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prevent. 1995 ; 4 : 401.
17. 서성욱, 정철현, 손길수, The Ginseng Review. 1998 ; 25 : 10.
18. 광이성, 김영숙, 신한재, 송용범, 박종대. 홍삼 산성 다당체(RGAP)와 항암제의 병행투여에 의한 항암 시너지 효과. J. Ginseng Res. 2003 ; 27(2) : 47-51.
19. 김세중. 면역학 길라잡이. 서울: 고려의학. 2000 ; 15-17.
20. Paul WE, Seder RA. Lymphocyte responses and cytokines. Cell. 1994 ; 76 : 241-251.
21. Constant SL, Botto mly K. Induction Th 1 and Th 2 CD4+ T cell response, The alternative approaches. Annu. Rev. Immunol. 1997 ; 114 : 297-322.
22. Sell S. Cell mediated immunity in vitro in immunology, immunopathology and immunity. Hergestown, Maryland; Hergers & Row Pub. 1980 ; 144-171.
23. Romgnani S. Human Th1 and Th2 subsets : doubt no more. Immuol., Today. 1991; 12 : 256-257.
24. Zurawski G, De Vries J.E. Interlukin 13, an interlukin 4-like cytokine that acts on monocytes and B cells, but not on T cells. Immunol., Today. 1994 ; 15 : 19-26.
25. Schluger NW, Rom WN. The host immune response totuberculosis. Am J Respir Crit Care Med. 1998 ; 157 : 679-691.
26. Brown M. A., Hural J. Functions of IL-4 and control of its expression. Crit. Rev. Immunol. 1997 ; 17 : 1-32.
27. Fiorentino DF, Zlotnik A, Mosmann TR, Howard M, O'Garra A. IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. J Immunol. 1991 ; 147 : 3815-22.
28. Kobayashi M, Fitz L, Ryan M, Hewick RM, Clark SC, Chan S, Loudon R, Sherman F et al. Identification and purification of natural killer cell stimulatory factor (NKSF), a cytokine with multiple biologic effects on human lymphocytes. J Exp Med 1989 ; 170 : 827.
29. Samuel , C. E. Antiviral actions of interferons. Clin. Microbiol. Rev. 2001 ; 14 : 778-809.