Korean J. Food & Nutr. Vol. 21. No. 1, 1~6 (2008)

THE KOREAN JOURNAL OF
한국식품영양학회지
FOOD AND NUTRITION

율무 추출물의 마우스 비장세포와 대식세포 활성 효과

†류 혜 숙
상지대학교 보건과학대학 식품영양학과

Effects of *Job's Tears*(*Yul-Moo*) Extracts on Mouse Splenocyte and Macrophage Cell Activation

†Hye-Sook Ryu
Dept. of Food and Nutrition, College of Health Sciences, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

Abstract

Job's Tears(*Yul-Moo*) is a grass crop long-used as a traditional medicine; it is also a nourishing food. There are reports of its anti-inflammatory, stomachic, antiallergic activity, and antispastic effects and *Job's Tears* has been used in China to treat rheumatism, and neuralgia although its warts, rheumanism remains unclear. Thus, the present study was performed to investigate the *in vitro* effect of *Job's Tears* extracts on immune function. Here mouse splenocyte proliferation and cytokine production(IL-1β, IL-6, TNF-α) by peritoneal macrophages cultured with ethanol and water extracts of *Job's Tears* were examined. splenocytes proliferation increased with *Job's Tears* water extracts supplement at concentrations investigated The cytokine production(IL-1β, IL-6, TNF-α) by ELISA using a cytokine kit And IL-1β, IL-6 and TNF-α production increased water extracts supplementation. This *in vitro* study suggests that supplementation with *Job's Tears* water extracts may enhance immune function by regulating the splenocyte proliferation and enhancing cytokine production of activated macrophages.

Key words: splenocytes proliferation, *Job's Tears*, cytokine, IL-1β, IL-6, TNF-α, immune.

서 론

면역이란 인체가 미생물에 의해 침입되는 과정에서 나타나는 저항성으로 면역 반응은 조직, 세포, 분자들이 감염원에 대하여 기관을 보호하는 것이다[1]. 이러한 면역 작용을 식품으로 증진시키려는 연구에 대한 관심이 부각되고 있다[2~4]. 최근 이와 관련된 연구로 메밀, 돌미나리 등이 세포 면역 기능을 강화시켰다는 보고[5,6] 가 있으며, 생강의 면역 세포 증진 효과도 밝혀진 바 있다[7]. 생강 첨가 된장을 투여한 쥐에서 우수한 종양세포 생성 억제 작용을 가지는 것으로 나타나, 생강의 항암 효과에 대한 연구와 생강 추출물 투여가 마우스 면역 세포 활성을 증진시켰다고 보고되기도 하였다[8]. 톳에 대한 연구로도 면역 세포 증진 효과와 항산화 효소 활성 효과에 대한 연구결과가 보고된 바 있다[9,10]. 본 연구에서 이용된 율무는 식용과 약용으로 널리 이용되고 있으며[11], 율무의 면역능에 대한 연구는 미미한 수준이나 기존의 많은 연구에서 밝혀진 율무의 생리활성물질 연구로는 항암 작용 성분인 coixenolide[12,13]와 배란 유발 성분으로 phytosterol 유도체[14]에 관한 연구가 알려져 있다. 또, 율무의 혈당 강화 성분으로 glycan인 coixans A, B, C[15]가 알려져 있다. 그 밖에 율무는 항동맥 강화작용[16,17] 있는 것으로 밝혀져 있어 기능성 식품 소재로서의 가능성이 기대된다.

본 연구에서는 면역 증진능을 갖는 천연 식품 소재로서의 율무의 면역 세포 활성 효과를 검증하여 율무의 면역 증진 식품으로서의 이용 가능성을 확인하고자, *in vitro* 실험을 통해 율무의 물 추출물과 에탄올 추출물 첨가에 의한 마우스 비장세포 증식능과 복강 대식세포에서 분비되는 cytokine (IL-1β, IL-6, TNF-α) 생성량을 측정하였다. 따라서 본 연구

† Corresponding author: Hye-Sook Ryu, Dept. of Food and Nutrition, Sangji University, Wonju 220-702, Korea.
Tel: 82-33-738-7641, Fax: +82-33-730-0186, E-mail: rhs7420@hanmail.net

는 추출 조건을 달리한 율무 추출물이 마우스 비장세포에 직접 작용하여 면역 세포를 증식시키는 활성이 있는지 검토하였고, 동시에 복강 대식세포에서 분비되는 cytokine(IL-1β, IL-6, TNF-α) 생성량을 측정함으로써 면역 세포의 활성화 기구에 관여함을 조사함으로써 면역 증진능을 갖는 천연 식품 소재로서의 율무의 면역 증진 식품으로서의 가능성을 확인하고자 실시하였다.

재료 및 방법

1. 시료추출 및 실험동물

동결 건조된 시료를 증류수 또는 에탄올로 환류 냉각시키면서 80℃ 수욕상에서 3시간씩 3회 반복 추출한 후 감압 농축하여 물 추출물과 에탄올 추출물을 얻었다. 본 연구에 사용된 동물은 7~8주령된 암컷 Balb/c mouse를 (주)대한실험동물센터로부터 공급받아 고형 사료와 물을 자유로이 공급하면서 7~8일 정도 실험 동물실에서 적응시킨 후 체중이 15 g 내외인 마우스를 실험에 사용하였다. 실험 동물실 온도는 22±2℃, 습도는 40~60%로 유지하였고, 명암주기(light and dark cycle)는 12시간 단위로 조절하였다.

2. 시약 및 배지

본 연구에 사용된 배지는 GIBCO BRL(Grand Island, NY, USA) 제품의 RPMI medium 1640를 사용하였고, fetal bovine serum(FBS), lipopolysaccharide(LPS), thioglycollate, sodium bicarbonate, ammonium chloride, TRIZMA®base, TRIZMA®hydrochloride, trypan blue solution(0.4%), DMSO(dimethyl sulfide), 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide(MTT) 등의 시약은 Sigma(St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였다.

3. 마우스 비장세포의 분리 및 배양

마우스 비장세포 분리는 Mishell[18]의 방법에 의해 시행되었다. 경추 탈골법으로 희생시킨 마우스로부터 비장을 무균적으로 적출하여 RPMI 1640 배양액으로 씻은 후 멸균 유리봉으로 가볍게 분쇄하여 세포를 유리시켰다. 분리된 세포 현탁액을 200 mesh stainless steel sieve(Sigma, Louis, MO, USA)에 통과시켜 배양액으로 2번 세척하고, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 이것을 Tris-buffered ammonium chloride (NH_4Cl, pH 7.2)와 증류수에 현탁시켜 5분간 처리하여 적혈구를 제거하였다. 적혈구가 제거된 비장세포는 다시 RPMI medium 1640 용액에 분산시켜, trypan blue solution으로 염색한 후 hemocytometer를 이용하여 그 세포수를 측정하였다. 세포농도 5.0×10^6 cell/㎖로 분산시킨 후 96-well plate에 90 ㎕씩 분주한 후 세포 증식능 측정에 사용하였다.

4. 복강 대식세포의 대식세포의 분리 및 배양 및 사이토카인(IL-1β, IL-6, TNF-α) 분비량 측정

마우스의 복강 내에 4% thioglycolate(Sigma, Louis, MO, USA) 2 ㎖를 주사하여 3일간 복강 내에 대식세포가 모이게 한 후, 경추 탈골법에 의해 희생시킨다. 마우스 복부의 표피를 절개하여 벗긴 다음, RPMI 1640 용액으로 복강을 가볍게 마사지한 후 세척액을 취하여 멸균 시험관에 수집하였다. 수집된 세척액을 4℃, 3,000 rpm에서 10분간 원심 침전시켜 cell pellet을 얻었다. Cell pellet을 Tris-buffered ammonium chloride(0.87% NH_4Cl, pH 7.2)와 증류수에 현탁시켜 5분간 처리하여 적혈구를 제거하고 RPMI 1640 용액으로 2회 원심 세척하였다. 모아진 대식세포를 10%의 불활성화된 FBS를 함유한 RPMI 1640 용액에 분산시켜, trypan blue solution으로 염색한 후 hemocytometer를 이용하여 그 세포수를 측정하였다. 세포수를 1×10^6 cell/㎖의 농도로 희석하여 24-well plate에 분주 후 37℃, 5 % CO_2 incubator에서 배양하였다. 2시간 후 각 well의 상층액을 걷어 비부착 세포(non-adherent cells)는 제거하고 부착 세포(adherent cells)만을 사용하였다. 사이토카인(IL-1β, IL-6, TNF-α) 분비량을 측정은 비부착성 세포는 제거하고 부착성 마우스 복강 대식세포에 10%의 불활성화된 FBS를 함유한 RPMI 1640 용액을 900 ㎕ 넣고 최종농도가 10 ㎍/㎖와 100 ㎍/㎖ 가 되도록 생강 추출물을 각 100 ㎕씩 분주한 다음 37℃, 5% CO_2 incubator(Sanyo, Louis, MO, USA)에서 48시, 간 배양하였다. 배양액을 분리하여 IL-1β, IL-6, TNF-α의 분비량을 ELISA 사이토카인 kit(R&D system, NY, USA)를 이용하여 측정하였다.

5. 통계분석

모든 연구 결과의 자료는 통계 프로그램인 SAS package(ver. 12.0)를 이용하여 평균 및 표준편차를 계산하였으며, 군간의 비교에서 각각의 요인은 분산분석(Analysis of Variance, ANOVA)을 사용하였고, Duncan's multiple range test로 p=0.05 수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1. *In Vitro* 실험에서의 율무 추출물의 마우스 비장세포증식능에 미치는 영향

율무 물 추출물과 에탄올 추출물의 첨가가 비장세포 증식능에 미치는 영향에 대한 검색 결과는 이미 보고된 바[7]와 같이 Fig. 1과 같다. 율무 물 추출물을 첨가하여 배양한 경우, 농도 10, 50, 100, 250, 500, 1,000 ㎍/㎖에서 각각 1.467±0.04, 1.203±

0.06, 1.051±0.09, 1.007±0.11, 1.759±0.03, 1.340±0.01로, 에탄올 추출물을 첨가하여 배양한 경우 농도 250, 500, 1,000 μg/mℓ에서 각각 1.149±0.03, 1.469±0.08, 1.065±0.09로 250, 500 μg/mℓ에서 비장세포 증식이 높은 경향을 보였으며, 고농도인 1000 μg/mℓ의 농도에서는 효과가 떨어지는 경향을 보여주어 지나치게 고 농도의 투여는 오히려 해로운 영향을 줄 가능성을 제시하고 있다. 이는 고들빼기 물 추출물에서 100, 250, 500 μg/mℓ 농도에서 유의적인 증식능을 나타낸[6] 연구와 유사한 결과라 할 수 있다. 따라서 50~500 μg/mℓ 농도의 율무 추출물은 비장 세포의 활성을 촉진시키거나 면역 반응을 증가시킬 수 있는 면역 활성 물질이 있으리라 사료된다.

2. 율무 물 추출물과 에탄올 추출물이 사이토카인 생성량에 미치는 영향

활성화된 대식세포에 의해 분비된 사이토카인(TNF-α, IL-1, IL-6, IL-8, IL-12), hydrogen peroxide(H_2O_2), nitric oxide(NO) 등이 암세포에 대한 세포독성을 나타내는 물질로 제시되어 왔다[19]. 그 중에서도 특히 IL-1, IL-6, TNF-α는 활성화된 대식세포로부터 생성되는 대표적인 사이토카인으로 초기염증반응에서 세포간 신호전달을 수행함으로써 면역 반응에 중요한 역할을 담당한다고 알려져 있다[20]. 본 실험에서는 활성화된 대식세포가 생성해 낸 IL-1β, IL-6, TNF-α의 분비량을 측정하였고, 각 군별 양성 대조군으로는 LPS(15 ㎎/mℓ)로 자극한 대식세포로부터 분비된 cytokine을 측정함으로써 대식세포의 활성화에 대한 지표로 삼았다.

1) IL-1β 생성량

IL-1β 생성량을 ELISA 사이토카인 kit를 이용하여 측정한

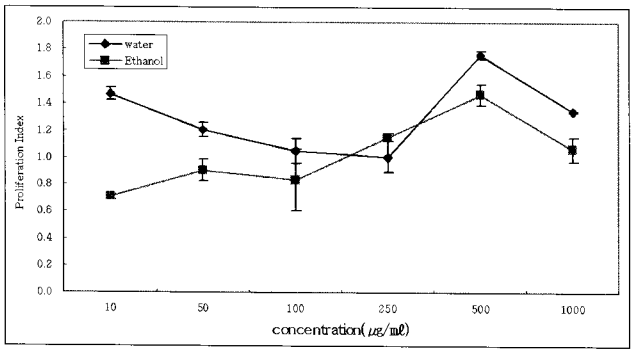

Fig. 1. Proliferation index of mice splenocyte cultured with water or ethanol extracts of *Job's Tear* and mitogens.

Spleen cells(5×10^6 cell/mℓ) were cultured with water or ethanol extracts of *Job's Tear* on 96-well flat bottomed plates for 48 hrs. After culture, degree of splenocyte proliferation was measured by the MTT assay.

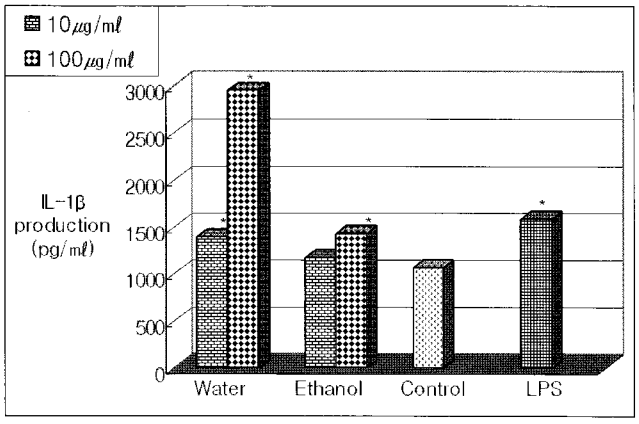

Fig. 2. IL-1β production by activated peritoneal macrophage cultured with *Job's Tear* water or ethanol extracts.

*Significant difference from control at $p<0.05$.

결과는 Fig. 2에 나타내었다. 율무 추출물을 첨가하지 않은 대조군은 1066.58±58 pg/mℓ IL-1β를 생성하였고, 율무 물 추출물 10, 100 μg/mℓ 농도 첨가 시 각각 1,395.35±35, 2,946.51±51 pg/mℓ로 대조군(1,066.58±58 pg/mℓ)에 비해 유의적으로 높은 IL-1β를 생성하였고, 100 μg/mℓ 농도에서 가장 높은 IL-1β를 생성하였다($p<0.05$). 율무 에탄올 추출물 10, 100 μg/mℓ 농도 첨가시 각각 1,971.19±19, 1,428.22±58 pg/mℓ로 대조군에 비해 높은 IL-1β를 생성하였다($p<0.05$). 특히 100 μg/mℓ 농도의 물 추출물을 첨가한 경우에서 미토젠인 LPS를 첨가하여 배양한 양의 대조군 15,843.64±24 pg/mℓ보다 높은 IL-1β 생성량을 보여, 이는 외부 항원의 자극 시 율무 물 추출물이 면역 반응을 증진시킬 가능성이 있음을 보여주는 결과로 사료된다. 본 실험결과 에탄올 추출물보다는 물 추출물에서 높은 IL-1β 생성량을 보였으며, 물 추출물 100 μg/mℓ 농도에서 가장 높은 IL-1β을 생성하였다.

2) IL-6 생성량

IL-6 함량을 ELISA 사이토카인 kit를 이용하여 측정한 결과는 Fig. 3에 나타내었다. 대조군은 44.72±0.00 pg/mℓ로 IL-6를 생성하였고, 미토젠인 LPS를 첨가한 경우에는 167.58±0.40 pg/mℓ로 IL-6를 생성하여 대조군에 비해 IL-6 생성량이 유의적으로 상승된 것으로 나타났다($p<0.05$). 율무 물 추출물 10, 100 μg/mℓ 농도 첨가시 각각 264.59±1.49, 264.94±1.24 pg/mℓ로 대조군보다 유의적으로 높은 IL-6가 생성되어, 두 농도 모두에서 미토젠인 LPS보다 유의적으로 높은 IL-6 생성량을 보였다($p<0.05$). 동일한 시료의 비교가 아닌 제한점은 있지만 백작약의 10 μg/mℓ 물 분획물 첨가시에도 유의적으로 많은 양의 IL-6를 생성한 보고[21]가 있다. 에탄올 추출물 첨가의 경우에도 각각 10, 100 μg/mℓ 농도에서 184.88±0.06 pg/mℓ, 108.8±

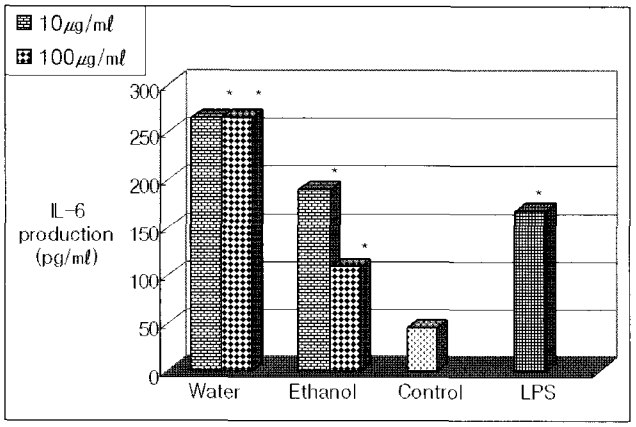

Fig. 3. IL-6 production by activated peritoneal macrophage cultured with *Job's Tear* water or ethanol extracts.
*Significant difference from control at $p<0.05$.

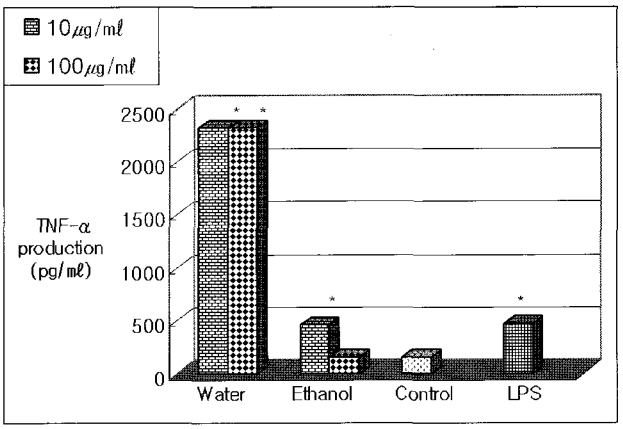

Fig. 4. TNF-α production by activated peritoneal macrophage cultured with *Job's Tear* water or ethanol extracts.
*Significant difference from control at $p<0.05$.

0.20 pg/mℓ로 대조군에 비해 유의적으로 높은 생성량을 보였다($p<0.05$). 수수의[22] 에탄올 추출물 10, 100 ㎍/mℓ 농도 첨가시 각각 26.17±0.36, 2.11±0.06 pg/mℓ로 대조군(1.57±0.00 pg/mℓ)보다 유의적으로 높은 IL-6 생성량을 보였다($p<0.05$). 본 실험결과 물 추출물 10, 100 ㎍/mℓ 농도 모두에서 대조군보다 높은 IL-6 생성량을 보였고 특히, 물 추출물을 첨가한 10 ㎍/mℓ, 100 ㎍/mℓ 농도에서는 미토젠인 LPS로 배양한 양의 대조군보다 유의적으로 높은 IL-6 생성량을 나타내었다. 또한, 모든 농도에서 에탄올 추출물보다 물 추출물 첨가시 높은 IL-6 생성량을 보였다. 따라서 율무 물 추출물이 B 림프구를 분화시켜 항체 생성을 유도하는 IL-6의 생성량을 증가시켜 율무 추출물이 B 세포를 활성화시킬 가능성이 있을 것으로 사료된다.

3) TNF-α 생성량

TNF-α는 T 림프구와 상호 작용하여 T림프구의 활성과 성장 등을 조절하며 암세포의 세포 용해를 유도함으로써 직접적으로 항암 작용을 나타내기도 한다[23]. 반면, TNF-α, nitric oxide(NO) 및 prostaglandin(PG)을 지나치게 다량 분비하여 염증 및 면역 반응에 관여하여 병의 상태를 더욱 악화시키는 원인이 되기도 한다[24]. 따라서 식품과 관련된 연구에서 LPS 증가 수준의 상승을 지표로 보고 있다[7,22]. TNF-α 함량을 ELISA 사이토카인 kit를 이용하여 측정한 결과는 Fig. 4에 나타내었다. 대조군은 147.71±1.00 pg/mℓ의 TNF-α를 생성하였고, 미토젠인 LPS(15 ㎍/mℓ)를 첨가한 경우에 470.92±0.33 pg/mℓ의 TNF-α를 생성하여 대조군에 비해 유의적으로 높은 TNF-α을 생성하였다($p<0.05$). 율무 물 추출물 10, 100 ㎍/mℓ 농도를 첨가한 경우, 각각 2326.04±5.91, 2327.24±0.59 pg/mℓ로 대조군보다 유의적으로 높은 TNF-α 생성량을 보였다($p<0.05$). 또한, 율무 물 추출물 10, 100 ㎍/mℓ 농도 첨가시 미토젠인 LPS(15 ㎍/mℓ)에 의한 TNF-α 생성량보다 유의적으로 높은 TNF-α 생성량을 보였다($p<0.05$). 율무 에탄올 추출물 10, 100 ㎍/mℓ 농도를 첨가한 경우에는 각각 460.04±0.20, 224.35±0.96 pg/mℓ로 대조군보다 높은 TNF-α 생성량을 보였다. 이는 10, 100 ㎍/mℓ 농도의 수수 에탄올 추출물 첨가시 각각 2829.56±0.00, 2642.26±28.96 pg/mℓ로 대조군(381.09±0.00 pg/mℓ)보다 유의적으로 높은 TNF-α 생성을 보인 결과와도 유사한 경향을 보여주었다[21]. 본 실험결과 율무 물과 에탄올 추출물 첨가가 대조군보다 높은 TNF-α 생성량을 보였으며, 특히 물 추출물에서는 미토젠인 LPS로 배양한 양의 대조군보다 유의적으로 높은 TNF-α 생성량을 보였다($p<0.05$). 이상의 본 연구결과를 종합해 보면 율무 추출물을 첨가한 마우스 복강대식세포의 배양액에 축적된 IL-1β의 경우, 물 추출물 100 ㎍/mℓ 농도에서 가장 높은 생성량을 보여 주었고, IL-6의 경우, 물 추출물 10, 100 ㎍/mℓ 두 농도 모두에서 LPS 수준의 생성량을 나타내었다. TNF-α의 경우 물 추출물을 첨가한 10, 100 ㎍/mℓ 두 농도 모두에서 미토젠인 LPS 수준의 생성량을 보여주어, 이는 선행 연구[22,25]에서 검색된 *ex vivo* 50 ㎎/㎏ B.W.와 500 ㎎/㎏ B.W.의 농도와 유사한 농도로 보여지는 *in vitro* 10 ㎍/mℓ와 100 ㎍/mℓ 농도에서 율무 물 추출물이 외부의 항원에 민감하게 대응하여 면역 세포를 활발하게 분비할 가능성이 있을 것으로 사료된다.

요약 및 결론

In vitro 실험을 통한 율무 추출물 첨가가 마우스의 면역 세포 활성에 미치는 영향에 대해 검색한 결과, 물 추출물의 10 ㎍/mℓ의 농도와 500 ㎍/mℓ의 농도를 첨가했을 때 비장세포 증

식능을 촉진하는 효과가 있는 것으로 보여진다. 복강대식세포에서 생성되는 IL-1β, IL-6, TNF-α 사이토카인 생성량을 측정한 결과, 율무 물 추출물과 에탄올 추출물 10, 100 ㎍/㎖ 농도에서 생성된 IL-1β, IL-6, TNF-α 사이토카인은 대조군보다 높은 생성량을 보였다. 특히 에탄올 추출물보다는 물 추출물에서 높은 생성량을 보였고, IL-1β, IL-6와 TNF-α 사이토카인 모두 100 ㎍/㎖의 농도에서 높은 생성량을 나타내었다.

이상의 결과에 의하면 율무 물 추출물 및 에탄올 추출물은 비장세포 증식능과 비장세포와 사이토카인 생성량을 증가시킴으로서 면역 기관의 주요 기능을 증진시킬 가능성이 있을 것으로 사료된다. 따라서 이와 같은 마우스 실험을 근거로 임상실험을 통한 기능성 식품의 개발의 근거자료로 활용될 수 있기를 기대한다.

참고문헌

1. Ji, WD, Jeong, HC, Lee, SJ and Chun, YG. Antimicrobial activity and distilled components of garlic and ginger. *J. Agric. Chem. Biotechnol.* 40:514-518. 1997
2. Pyo, MY and Su, MH. Effects of *Phellinus linteus* extracts on the humoral immune response in normal and cyclophosphamide-treated mice. *J. Applied Phamcol.* 9:194-200. 2001
3. Park, JS and Chyun, JH. Effects of low fat diet and saturated fat supplementation on the immune status of BALB/c mouse. *Kor. J. Nutr.* 26:578-585. 1993
4. Wagner, H. Search for plant derived natural products with immunostimulatory activity. *Pure & Appl. Chem.* 7:1271-2178. 1990
5. Kim, GH and Sunwoo, YK. Effects of small water dropwort extract on cellular immune response of mice. *J. Bacteriolo. Virol.* 28:419-430. 1993
6. Park, HA. Enhancing effect of *Ixeris sonchifolia* Hance *Oenanthe javanica*, and *Fagopyrum escluentum* Moench on mouse immune cell activation. MS. Thesis, Sookmyung Women's Uni., Seoul. Korea. 2003
7. Ryu, HS and Kim, HS. Effects of job's tear extracts on mouse immune cell ativation. *J. Kor. Diet Assoc.* 11:44-50. 2005
8. Park, KY and Rhee, SH. The antitumor effect in Sarcoma-180 tumor cell of mice of mice administered with Japanese apricot, garlic ginger doenjang. *J. Kor. Food. Cookery Sci.* 21:599-606. 2005
9. Yun, HJ. Effect of *Hizikia fusiforme* water extracts on mouse immune cell activation. MS. Thesis, Sookmyung Women's Uni., Seoul. Korea. 2003
10. Ko, MS, Shin, KM and Lee, MY. Effects of *Hizikia fusiforme* ethanol extract on antioxidative enzymes in ethanol induced hepatotoxicity of rat liver. *J. Kor. Soc. Food. Sci. Nutr.* 31:87-91. 2002
11. Yoo, TJ. Sikpoombogam, pp.288-290. Moonundang. Seoul. Korea. 1998
12. Tanimura, A. Studies on the antitumor component in the seeds of *Coix lachryma jobi l.* var. *mayuen* Stapf. II. The structure of coixenolide, *Chem. Phar. Bull.* 9:47-53. 1961
13. Numata, MA, Yamamoto, M and Yamada, H. Antitumor components isolated from the Chinese herbal medicine *Coix lachryma-jabi* L. *Planta Med.* 60:356-359. 1994
14. Kond, YK, Nonno, C and Hikino, H. Isolation of ovulatory-active substances from crops of *Job's tears*(*Coix lachryma jobi* L. var. *ma-yuen* Stapf). *Che. Pharm. Bull.* 36: 3147-3152. 1998
15. Takahashi, M and Konno, CH. Isolation and hypoglycemic activity of coixans A, B and C glycans of *Coix lachryma-jobi* L. var. *mayuen* Stapf seeds. *Planta Med. Fed.* 1:64-65. 1986
16. Park, Y, Suzuki, H and Lee, YS. Effect of coxi on plasma, liver and fecal lipid components in the rat fed on lard or soybean oil-cholesterol diet. *Biochem. Med. Metab. Biol.* 39:7-1. 1988
17. Ary, MB, Richardson, M and Shewry, PR. Purification and characterization of an insect alpha-amylase inhibitor/endochitinase from seeds of *Job's tears. Biochem. Biophys. Acta.* 999:260-266. 1988
18. Mishell, BB and Shiigi, SM. Selected methods in cellular immunology, 1st ed, pp.4-27. WHFreeman and Co, Sanfrancisco. USA. 1980
19. Kim, HP, Son, KH, and Kang, SS. Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *J. Pharmacological Sci.* 96:229-245. 2004
20. Barnes, PJ and Liew, FY. Nitric oxide and asthmatic inflammation. *Immunology Today.* 16:128-130. 1995
21. Kim, J. Enhancing effect of *Paeonia japonica*, *Houttuynia cordata*, and *Aster scaber* extracts on the immunoreactivity *in vivo* in mice. Ph.D. Thesis, Sookmyung Women's Uni., Seoul. Korea. 2003
22. Ryu, HS, Kim, J and Kim, HS. Enhancing effect of *Sorghum bicolor* L. Moench(Sorghum, su-su) extracts on mouse spleen

and macrophage cell activation. *Kor. J. Food & Nutr.* 19: 176-182. 2006

23. Balkwill, FR, Maylor, MS and Malik S. Tumor necrosis factor as an anticancer agent. *Eur. J. Cancer.* 26:641-644. 1990
24. Chao, CC, Hu, S, Molitor, TW, Brosnan, CF and Berman, JW. Cytokine prodution by human fetal microglia and astrocytes. *J. Immunol.* 150:2659-2660. 1998
25. Lee, YS, Ryu, HS and Kim, HS. Effects of elm bark(*Ulmus davidiana* var. *japonica*) extracts on modulation of immunocompetence in mice. *J. Medicinal Food.* 10:118-125. 2006

(2008년 1월 21일 접수; 2008년 3월 21일 채택)