

생쥐의 체액성 면역에 미치는 인삼사포닌 분획물들의 영향

박한우·김세창·정노팔
연세대학교 이과대학 생물학과
(1988년 5월 20일 접수)

The Effect of Ginseng Saponin Fractions on Humoral Immunity of Mouse

Han-Woo Park, Sei-Chang Kim and Noh-Pal Jung
Department of Biology, College of Science, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea
(Received May 20, 1988)

Abstract

To investigate the effect of ginseng saponin fractions (total saponin, diol saponin and triol saponin) on the antibody production and on the recovery of immunosuppression in mouse, chick γ -globulin was used as immunogen and CY(cyclophosphamide) as immunosuppressive drug. The effect of ginseng saponin fractions on the production of total serum protein was investigated also. Circulating antibody was measured with ELISA method. Total saponin, diol saponin and triol saponin resulted 4 times higher titer values compared to control group in the production of antibody but resulted no effect on the recovery of immunosuppression induced by CY. From the above results ginseng saponin fractions are believed to effect on intact immune system and to promote antibody production by helping the cooperations among lymphocytes or the growth of lymphocytes. And the increase of total serum protein has no direct relations with the increase of circulatory antibody.

서 론

인삼성분들과 면역계와 연관된 연구들은, 인삼분획물들이 혈청내의 albumin, γ -globulin 등의 생합성을 증가시킨다는 보고⁶⁾, *Ancylostoma caninuss*로 감염시킨 흰쥐와 개에서 인삼에 의하여 혈중 β , γ -globulin이 증가된다는 보고¹¹⁾, 인삼 추출물은 S-RBC에 대한 순환성 항체의 양을 증가시키며 자연살해세포(natural killer cell)의 활성을 증가시킨다는 보고⁷⁾에서 볼 수 있다.

또한 total saponin은, 면역세포간의 조절물질인 IL-2와 같이 처리하였을 때 생쥐 흉선세포의 증식에 공력작용(synergy)을 나타낸다고 보고되었으며¹²⁾, chick- γ -globulin을 주사한 생쥐에서 이 항원에 대한 항체의 생성을 증가시키며 CY에 의하여 유도된 면역관용의 회복에 효과가 있다고 보고 되었다¹⁰⁾.

본 연구에서는 인삼사포닌 분획물들(total saponin, diol saponin, triol saponin)이 항체 생성에 미치는 영향과 각 분획물들의 항체 생성에 대한 작용양상의 차이를 알아보고자 하였으며, 면역억제의 회복에 미치는 인삼사포닌 분획물들의 영향을 알아보기 위하여 CY를 투여한 실험군에 인삼사포닌 분획물들을 처리한 후 항체를 측정하였다.

또한 항체생성과 혈청총단백질과의 관계를 알아보기 위하여 항체를 측정할 동일한 실험군에서 혈청총단백질을 측정하여 혈청총단백질의 증가와 항체생성과의 연관성을 알아보았다.

실험재료 및 방법

1. 실험재료

실험동물은 표준사료로 사육한 생후 10주된 체중 30g의 ICR계 수생쥐 5마리를 한 실험군으로 사용하였으며, 인삼(*Panax ginseng* C. A Meyer)은 금산산 인삼(4년근 60편급)을 사용하였다. 항원으로는 정제된 암닭의 γ -globulin(Sigma USA)을 사용하였으며 ELISA 방법에 사용한 모든 시약은 Sigma(USA)에서 구입하였다. Micro-well plate는 Nunc(Denmark)에서 구입하였고 그외의 기초시약들은 Wako, Sanyo(일본)의 GR급 및 특급품을 사용하였다.

2. 실험방법

Total saponin은 Jung and Kim⁴⁾의 방법에 의하여 추출하였으며 diol saponin과 triol saponin은 한¹³⁾의 방법에 의하여 추출하였다. 항원과 인삼사포닌 분획물들을 비롯한 억제제는 복강주사로 투여하였으며 항원자극 후 10일째 채혈하였다. 채혈한 혈액을 4°C에서 하루저녁 방치하여 응고시킨 후 2500×g에서 30분간 원심분리하여 얻은 상등액을 다시 1500×g에서 15분간 원심분리하여 얻은 상등액을 항혈청으로 사용하였다³⁾. 항혈청을 PBS-BSA-Tween에 100배, 200배, 400배 순으로 이배연속 희석하여 항체를 측정하였다. 항체가의 측정은 Voller⁹⁾ 등의 방법과 Johnston과 Thorpe³⁾의 방법을 이용하였으며 기질은 p-nitrophenylphosphate를 사용하였으며 이에 대한 효소는 alkaline phosphatase를 사용하였다. 혈청총단백질은 Lowry's method⁵⁾를 이용하여 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 항체의 생성에 미치는 인삼사포닌 분획물들의 영향

인삼사포닌 분획물들을 최저 2.5mg/kg/day부터 최고 80mg/kg/day의 농도로 투여한 실험결과 total saponin은 10mg/kg/day, diol saponin은 10mg/kg/day, triol saponin은 5mg/kg/day 투여군에서 항체가가 가장 높게 나타났다. 각 인삼사포닌 분획물중 항체가가 가장 높게 나타난 실험군을 서로 비교한 결과는 Fig. 1, Table 1과 같다.

대조군과 비교하였을 때 total saponin, diol saponin, triol saponin 모두 4배 이상의 역가를 나타내었다. 이것은 total saponin에 의하여 순환성 항체가 증가한다는 김과 정¹⁰⁾의 보고

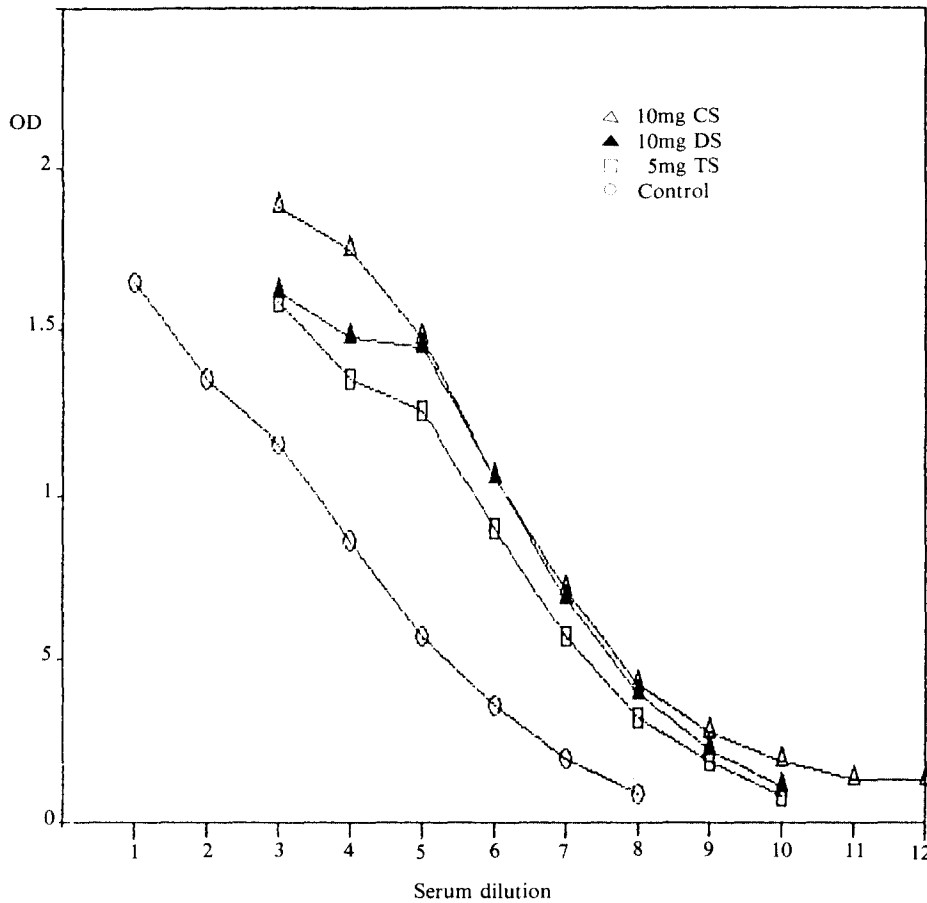


Fig. 1. The effect of saponin fractions on antibody production. Expressed values are mean, OD measured at 410 nm. Saponin fractions administrated are mg/Kg/day by intraperitoneal injection. Threshold was 0.5, initial dilution fold was 100 and the next by two-fold serial dilution. CS: total saponin, DS: diol saponin, TS: triol saponin

Table 1. The effect of saponin fractions on antibody production

	4	5	6	7	8	9
Control	0.874 ±0.156	0.577 ±0.122	0.368 ±0.098	0.206 ±0.049	0.087 ±0.034	0.057 ±0.017
CS(10 mg)	1.755 ^a ±0.167	1.484 ^a ±0.195	1.062 ^a ±0.181	0.724 ^a ±0.137	0.435 ^a ±0.082	0.287 ^a ±0.048
DS(10 mg)	1.477 ^a ±0.268	1.450 ^a ±0.261	1.069 ^a ±0.219	0.696 ^b ±0.167	0.405 ^b ±0.101	0.234 ^b ±0.061
TS(5 mg)	1.349 ^b ±0.020	1.265 ^a ±0.178	0.902 ^a ±0.116	0.571 ^a ±0.114	0.321 ^b ±0.075	0.189 ^b ±0.047

Values are OD, measured at 410 nm, expressed as mean ± SE. Saponin fractions were administrated mg/kg body weight by intraperitoneal injection.

a: $p < 0.001$, b: $p < 0.01$

와 일치하며 diol계 saponin과 triol계 saponin은 작용양상의 차이를 나타내지 않았으며 total saponin의 항체가에 근접하는 역가를 나타내는 것으로 보아 인삼사포닌 분획물은 대조군에 비하여 순환성 항체의 양을 유의할 수준으로 증가시키는 것으로 나타났다.

2. 면역억제의 회복에 미치는 인삼사포닌 분획물들의 영향

Table 2에서 나타난 바와 같이 CY에 의하여 면역이 억제된 상태에서는 인삼사포닌을 투여 하여도 항체생성량이 대조군과 차이가 없는 것으로 나타났다. 일반적으로 면역억제에 이용되는 CY는 간에서 활성화되어 중간대사산물이 작용을 나타내는데 DNA 합성을 저해하는 방식으로 면역계에 작용한다^{1,2)}. DNA 복제가 활발한 세포에 CY를 처리하면 치사효과를 나타내며 이러한 성질을 이용하여 암치료제로 쓰이기도 한다. 그러므로 인삼사포닌 성분은 CY와 경쟁적으로 작용하였을 때 회복효과를 나타낼 수 있을 것으로 기대되지만 실험결과 인삼사포닌은 CY와 경쟁적으로 작용하지 않음을 알 수 있다.

3. 혈청총단백질의 생성에 미치는 인삼사포닌 분획물들의 영향

Oura 등⁴⁾은 인삼에 의하여 혈중 albumin, γ -globulin 등의 단백질 합성이 증가한다고 보고하였다. 본 실험결과에서도 인삼사포닌의 투여로 혈청총단백질이 16% (triol saponin)에서 27% (total saponin)까지 증가하였다 (Table 3). 혈청총단백질의 생성에 최대 효과를 나타낸 실험군과 항체생성에 최대효과를 나타낸 실험군의 인삼사포닌의 투여량을 비교해 본 결과 이들 두가지 생체반응에 미치는 인삼사포닌의 최적 투여량이 다르게 나타났다. 혈청단백질의 주요한 생산기관이 간이며 혈청단백질중 항체의 비율이 매우 낮음⁵⁾을 고려할 때 혈청총단백질의 증가는 항체의 증가에 의한 것이 아님을 알 수 있고 인삼사포닌은 이 두가지의 생체반응에 각기 다른 농도로 작용을 나타내는 것으로 사료된다.

Table 2. The effect of saponin fractions on the recovery of immunosuppression

	Antibody	% to control	p-value
CY + Ag + Sal	0.356 ± 0.044	100	
CY + Ag + CS	0.355 ± 0.042	99.7	NS
CY + Ag + DS	0.314 ± 0.053	88.2	p<0.01
CY + Ag + TS	0.343 ± 0.017	96.4	NS

Values are mean ± SE, OD measured at 410 nm. Saponin fractions were administrated 10 mg/kg body weight by intraperitoneal injection. CY: Cyclophosphamide, Ag: Antigen, CS: Total Saponin, DS: Diol saponin, TS: Triol saponin. NS: not significant.

Table 3. The effect of saponin fractions on total serum protein

	Serum protein	% to control	p-value
Control	0.398 ± 0.021	100	
CS (20 mg)	0.508 ± 0.015	127	p<0.001
DS (20 mg)	0.484 ± 0.016	121	p<0.001
TS (5 mg)	0.463 ± 0.009	116	p<0.01

Values are mean ± SE, OD measured at 540 nm. The saponin fractions administrated are mg/kg body weight by intraperitoneal injection.

요 약

인삼사포닌 분획물들(total saponin, diol saponin, triol saponin)이 생쥐의 항체생성에 미치는 영향과 면역억제의 회복에 미치는 영향 그리고 혈청총단백질의 생성에 미치는 영향에 대하여 알아본 결과 아래와 같은 결론을 얻었다.

1. Total saponin은 10mg/ kg/ day, diol saponin은 10mg/ kg/ day, triol saponin은 5mg/ kg/ day로 생쥐에 투여하였을 때 순환성 항체가 가장 많이 생성되는 것으로 나타났다.
2. CY로 면역을 억제시킨 상태에서는 인삼사포닌을 투여하여도 순환성 항체의 생성이 대조군과 차이가 없는 것으로 나타났다.
3. 인삼사포닌은 항체생성과 혈청총단백질의 증가에 서로 다른 농도로 작용을 나타낸다.

인용문헌

1. Aisenberg, A.C.: *J. Exp. Med.* **125**, 833 (1967).
2. Brock, N., R. Gross, H.J. Honoret, H.O. Klein and B. Schneider: *Cancer* **27**, 1512 (1971).
3. Johnstone, A. and R. Thorpe: *Immunochemistry in Practice*, Blackwell Scientific Pub. p. 30-31, p.253-255 (1982).
4. Jung, N.P. and S.C. Kim: *Kor. J. Zool.* **21**(3), 79 (1978).
5. Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall: *J. Biol. Chem.* **193**, 265 (1951).
6. Oura, H., S. Hiai, Y. Odaka and T. Yokozawa: *J. Biochem.* **77**, 1057 (1975).
7. Singh, V.K., S.S. Agurwal and B.M. Gupta: *Proc. 4th INTL. Ginseng Symposium* (1984).
8. Smith, E.L., L.H. Robert, I.R. Lehman, R.J. Lefkowitz, P. Handler and Abraham White: *Principles of Biochem.* McGRAW-Hill INTL 7ed. p7-16 (1983).
9. Voller, A., D.E. Bidwell and A. Bartlett: *The Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*, ISBN. p.38 (1979).
10. 김미정, 정노팔: *Korean J. Ginseng Sci.* **11**(2), 130(1987).
11. 소진탁, 이건수, 김상준: *연세의대논문집*, **9** (2), 119(1976).
12. 최선경, 정노팔: *Korean J. Ginseng Sci.* **10**(2), 133(1986).
13. 한병훈: *한국인삼연초연구소 연보*(1977).