

Ethanol의 免疫毒性에 對한 人蔘 엑기스의 影響

安 榮 根 · 金 正 勳 · 李 柄 駿

圓光大學校 藥學大學

Effect of Panax ginseng Extracts on the Immunotoxicity of Ethanol

Young Keun Ahn, Jung Hoon Kim and Byung Zun Lee

College of Pharmacy, Won Kwang University

ABSTRACT

Experiments were performed on mice to investigate the effect of panax ginseng extracts on the immunotoxicity of ethanol.

Immune response were evaluated by antibody production, Arthus reaction, delayed type hypersensitivity (DTH), Rosette forming cell (RFC) and macrophage activity in mice, sensitized and challenged with sheep red blood cells.

The weight of liver, spleen and thymus were measured.

Following results obtained in this experiment.

The exposure of ethanol decreased humoral and cellular immune response, the body weight and macrophage activity.

Ginseng extracts such as ethanol extract, petroleum ether extract and n-butanol fraction were significantly increased the body weight. The administration of ginseng ethanol extract and ginseng petroleum ether extract were restored or increased humoral and cellular immune response.

Macrophage activity was decreased by ethanol, but restored by the ginseng extracts.

緒 論

Ethanol은 酒類, 알콜性 飲料, 消毒劑 溶媒 및 기
타 여러 면에서 利用되어 왔으며 過飲時에는 頭痛,

宿醉 및 消化器 障害 등으로 精神的 肉體的 苦痛을 일으키는 경우가 많다. 胃, 腸管을 통하여 吸收된 後 主로 肝에서 藥物代謝를 增加시켜 肝障害를 일으킴으로써^{1,2)} 長期間 飲用時 알콜性 肝炎과 肝 cirrosis, 肝 necrosis 등을 유발한다는 事實은 널리 알려져 있으며^{3,4)} 近來에는 免疫學的 側面에서 알콜의 免疫抑制作用이 報告되어 왔다.

Demeo 등은 肝硬變 患者에 있어서 血清內 顆粒球 化學走性 阻止 因子를 觀察하였으며⁵⁾ Tennenbaum 등은 ethanol에 慢性暴露된 rat에 있어서 dinitrobenzene에 의한 遲延過敏反應을 현저히 抑制한다고 報告하였고⁶⁾, Loose 등은 rat에 있어서 ethanol의 급성投與는 macrophage의 機能을 손상시키지는 않으나 慢性投與는 macrophage의 機能을 손상시킨다고 報告하였다⁷⁾. 또한 Mcfarland 등은 alcohol 中毒患者에 있어서 顆粒球 減少症 淋巴球 減少症 및 骨髓에 毒性作用이 있음을 報告하였으며⁸⁾, Berenyi 등은 肝硬變 患者에 있어서 T-Rosette 形成細胞가 顯著히 減少하고 streptokinase-streptodornase 및 mumps antigen에 對한 反應이 低下함을 報告하였다⁹⁾.

한편 人間에서는 오래 前부터 人蔘이 飲酒後에 나타나는 여러가지 有害한 作用을 除去하는 效果가 있다고 하여 ethanol의 解毒目的으로 飲酒前後에 人蔘을 服用하는 습관이 전해지고 있다. 最近에는 崔 등은 人蔘成分이 ethanol의 代謝에 影響을 주어 ethanol의 解毒에 기여한다라고 報告하고 있으며¹⁰⁾, Brekhman 등은 人蔘의 效果는 adaptogen 效果가 있어서 非特異的 抵抗力을 亢進시키며 特히 shigella菌의 endotoxin에 의한 赤血球 減少를 防止하거나 白血球數를 增加시킨다고 報告한 바 있으며¹¹⁾, Lee 등은 人蔘의 ether 分劃이 抗腫脹效果가 있음을 밝혔고¹²⁾ Hwang 등은 in vitro에서 人蔘의 石油 ether 分劃이 白血病細胞에 效果가 있음을 報告하였다¹³⁾. 또한 Yun 등은 rat와 mouse에 있어서 紅蔘抽出物이 化學的 發癌物質에 對한 癌誘發을 抑制한다고 報告하였으며¹⁴⁾, Jie 등은 人蔘의 水浸液이 抗體生成을 亢進시켰으며 特히 natural killer cell activity에 대하여 顯著한 影響을 가진다고 報

告하였다¹⁵⁾. 이외에도 人蔘에 관한 수많은 研究가 進行되어왔다. 따라서 著者는 人蔘이 alcohol性 飲料 및 工業原料로 쓰이고 있는 ethanol의 免疫抑制作用에 對한 免疫修飾效果가 期待되어 本 實驗에 착수하였던 바 有意한 結果를 얻었기에 이를 報告하는 바이다.

實驗材料 및 方法

1. 實驗動物

生後 5~6週齡 體重 14~16g의 ICR 雄性 mouse를 경남축산(경기도 화성군)에서 分讓받아 市販飼料로 1週間 給食하여 적응시킨 後에 20마리를 1群으로 區分하여 모두 5群으로 나누어 실온 23±2°C로 유지한 환경에서 4週間 飼育하였다.

2. 藥物의 調製 및 投與

1) Ethanol 溶液의 調製

Ethanol (Duksan pharmaceutical Co. LTD)를 精製水에 溶解하여 4% ethanol 溶液을 만들어 任意로 飲水케 하였다.

2) 人蔘成分의 抽出 및 投與

錦山產 4年根 人蔘을 細末로 하여 다음과 같은 試料을 만들었다.

① 人蔘 ethanol 抽出液

70% ethyl alcohol에 人蔘細末 50g을 넣고 70°C의 水浴상에서 3時間 환류냉각 장치하여 抽出, 여과한 다음 여액을 서서히 減壓濃縮시키고 용매를 증발시킨 다음 이 ethanol 抽出物 1g을 phosphate buffered saline(以下 PBS) 100 ml에 溶解하여 1日 1回 100 mg/kg을 腹控內 注射하였다.

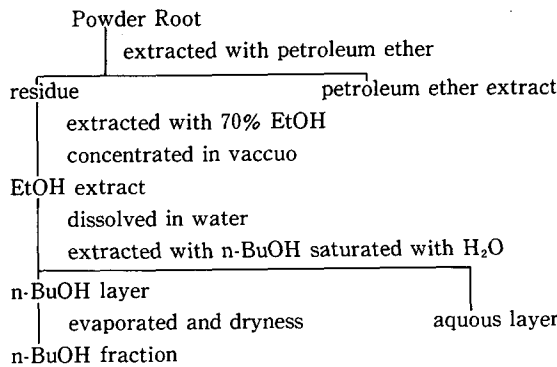
② 人蔘 butanol 分劃

Namba 등의 方法에 依하여 얻어진 n-butanol 分劃物 500 mg을 PBS 100 ml에 溶解하고 1日1回 500 mg/kg을 腹控內注射 하였다. Namba 등에 의 한 n-butanol 分劃物 抽出方法은 다음과 같다¹⁶⁾.

③ 人蔘石油 ether 抽出物

人蔘細末 50g을 300 ml 石油 ether에 넣고 15時間 동안 Soxhlet 抽出장치로 抽出하였다. 위에서 얻

Scheme 1. Extraction of the root of panax ginseng



은 엑기스를 rotary evaporater에서 減壓濃縮하고 냉장고에 保管하여 使用하면서 使用後에는 N₂ gas를 충전시켜 保管하였다. 이 抽出物 100 mg을 少量의 無水 alcohol에 溶解시키고 PBS 100 ml에 溶解하여 1日1回 10 mg/kg을 腹腔內注射 하였다.

3. 體重 및 臟器의 重量 測定

1) **體重** : 實驗動物의 體重은 實驗開始日과 最終藥物投與日 2日後에 測定하였다.

2) **臟器의 重量** : 實驗動物의 頸動脈을 切斷 採血한 後 脾臟, 肝臟 및 胸腺을 각각 摘出하여 그 外觀을 觀察하고, 그 重量을 測定하여 對體重의 百分比를 求하였다.

4. 抗原의 調製 및 免疫

1) **抗原의 調製** : 本 實驗에서는 緬羊 赤血球 (sheep red blood cell : 以下 S-RBC)를 使用하였다. 그 方法은 雄性緬羊의 頸動脈으로부터 heparin을 처리한 注射器로 採血한 後 同量의 Alserver's 氏液 (pH 6.1)을 加하여 4℃에서 保存하여 2週日以內에 使用하였다. 保存中인 S-RBC를 使用할 때에는 使用直前 PBS로 3回 遠心洗滌 ml당 S-RBC가 1×10⁸이 되도록 Hanks balanced salt solution (以下 HBSS)에 浮遊시켜 使用하였다.

2) **免疫** : 遠心洗滌한 S-RBC를 Mackness 等 및 Reed 等의 方法으로^{17,18)} PBS에 1×10⁸ S-RBC/ml의 濃度로 浮遊하고 浮遊液 0.1 ml(1×10⁷ S-RBC)를 mouse의 尾靜脈에 注射하여 1次免疫을 實

施한 4日 後에 mouse의 左側後肢足蹠皮內에 2×10⁸ S-RBC/ml 浮遊液 0.05 ml(1×10⁸ S-RBC)를 注射하여 惹起시켰다.

5. 赤血球 凝集素價 및 溶血素價의 測定^{18,19)}

1) 血清의 分離 및 非動化

Mouse의 頸動脈을 切斷하여 血液을 採取 凝固시킨 後 遠心分離하여 血清을 分離하고 56℃에서 30分間 非動化시킨 後 4℃에서 保存하여 使用하였다.

2) 赤血球 凝集素價의 測定

S-RBC의 凝集素價 (Hemagglutination titer : 以下 HA titer)를 microtitration tray (Nunclon micro test tray)를 使用하여 다음과 같이 實施하였다. 즉 各 實驗動物로부터 얻은 個個의 非動化 血清을 各 well에 HBSS로 2倍系列로 稀釋한 後 HBSS에 浮遊한 0.5% S-RBC 0.025 ml를 잘 混合한 다음 37℃에서 18時間 放置하여 赤血球의 凝集類型을 觀察判讀하였으며 凝集을 일으키는 血清의 最高稀釋度를 그 血清의 凝集素價로 하였다.

3) 赤血球 溶血素價 (Hemolysin titer : 以下 HY titer)

S-RBC의 量 및 血清의 稀釋은 凝集素價 測定時와 同一하게 實施하였으며 S-RBC와 稀釋血清이 들어있는 各 well에 guinea pig complement를 20倍로 稀釋하여 0.025 ml씩 加한 다음 37℃에서 1時間 放置하여 溶血與否를 觀察하였다. 이때에 完全 溶血을 일으키는 血清의 最高稀釋度를 그 力價로 判讀하였다.

6. 足蹠腫脹反應 (Foot pad swelling test) 測定

Arthus反應 (Antibody mediated hypersensitivity) 및 遲延型 過敏反應 (Delayed type hypersensitivity : 以下 DTH)을 測定하기 위하여 河 等의 方法으로 다음과 같이 實施하였다¹⁸⁾. 즉 1次免疫 4日後에 S-RBC 0.05 ml(1×10⁸)를 mouse의 左側肢足蹠에 皮內注射하였다. 注射 後 一定時間이 經過한 後 腫脹의 두께를 0.01 mm 눈금 microcaliper로 測定하였으며 腫脹程度의 測定價는 測定에 따른 誤差를 避하기 위하여 2回 測定한 數値를 平均하였

다. 判讀의 基準은 Sugimoto 및 Elliott 等の 判讀 基準에 따라 3時間 後 反應을 Arthus 反應, 24時間 經過後의 反應을 遲延型 過敏反應으로 看做하였다^{20,21}. 足趾腫脹指數는 다음과 같이 하였다.

$$\text{Foot pad swelling index} = \frac{\text{腫脹두께} \cdot \text{正常두께}}{\text{正常두께}} \times 100$$

7. 肝臟細胞 浮遊液의 調製

脾臟을 mouse로부터 無菌的으로 摘出하여 minimum essential medium(以下 MEM)에 조심스럽게 粉碎한 後 nylon mesh로 濾過하여 死細胞를 除去하였으며 寒冷 MEM으로 4°C에서 3回 遠心洗滌한 後 脾臟細胞가 2×10^7 cell/ml가 되도록 PBS에 浮遊하였다. 每 實驗때마다 이 檢査는 trypan blue dye exclusion method로 다음과 같이 하였다. 즉 試驗管에 0.3 ml의 細胞浮遊液을 넣은 後 0.1 ml의 trypan blue dye solution을 加하여 5分間 經過 後 血球計算板에서 無色生細胞와 青色으로 染色된 死細胞의 數를 센 그 百分率로 計算하였다.

8. 脾臟細胞의 Rosette 形成細胞(以下 RFC)의 檢出

脾臟細胞의 rosette 形成細胞의 檢査는 Elliott 等の 方法으로 實施하였다²¹. 卽 脾臟細胞浮遊液 0.25 ml(5×10^6 cell)와 S-RBC 浮遊液 0.25 ml(5×10^7 cell)를 試驗管에 넣고 混合하여 200 g에서 12分間 遠心分離하여 4°C에서 2時間 放置한 後 이를 조심스럽게 再浮遊한 後 이 再浮遊液 1滴을 血球計算板에 떨어뜨리고 RFC를 檢鏡 觀察하였다. 檢鏡時 脾臟細胞에 S-RBC가 3個以上 附着한 細胞를 RFC로 判定하여 다음 公式에 準하여 計算하였다.

$$\text{RFC}(\%) = \frac{\text{Number of rosette forming cell}}{\text{Total cell counted} \times \% \text{ viability}} \times 100$$

9. 大食細胞의 活性檢査

大食細胞의 食食能力을 測定하고자 本 實驗에서는 Biozzi 等이 記述한 方法으로 다음과 같이 實施하였다²². 卽 最終 藥物投與 2日後에 carbon clear-

ance test를 行했다. 卽 rottring ink를 滅菌蒸溜水에 녹인 1% gelatin 液으로 6倍 稀釋하여 顯濁液을 調製하여 37°C에 本 實驗期間동안 密栓하여 保管하였다. 이와같이 調製한 colloid狀 炭素顯濁液을 mouse 體重 g當 0.01 ml씩 mouse의 眼窩後部靜脈血管叢(retro orbital plexus)을 calibrated heparinized capillary tube (20 μ l: microhemocrit)로 穿刺하여 20 μ l의 血液을 10分, 20分, 30分 間隔으로 採取하여 0.1% sodium carbonate(蒸溜水에 溶解한 液) 溶液 2 ml가 든 vial에 넣어서 赤血球가 溶解되도록 잘 混和하였다. 이어서 흡광도를 600 nm에서 測定하고 다음의 公式에 따라 計算하였다.

Corrected phagocytic index

$$p = \frac{W}{L+S} \times \sqrt[3]{K}$$

W : 體重

L : 肝臟의 重量

S : 脾臟의 重量

K: phagocytic coefficient(測定濃度の 10倍數를 對數로 전환하고 時間에 對하여 plot한 graph 曲線)

W: 모든 data의 有意性 檢定은 Student's t-test로 檢定하였다.

實驗 結果

Mouse에 있어서 ethanol의 免疫毒性에 미치는 人蔘엑기스의 影響을 究明하고자 實施한 本 實驗의 結果는 다음과 같다.

1. 體重, 肝臟, 脾臟 및 胸腺의 重量變化

① 體重的 變化

各 群의 體重的 變化는 Table 1과 같다. 正常群에서는 $55.05 \pm 16.69\%$ 의 體重增加를 보인 반면 EtOH단독 投與群에서는 $40.09 \pm 7.42\%$ 의 增加를 나타내는데 비해 人蔘 EtOH기스, 人蔘 石油 ether엑기스 및 人蔘 n-BuOH分割, 併用投與群에서는 各各 $79.16 \pm 17.15\%$, 75.98% , $64.60 \pm 14.60\%$ 의 현저한 體重增加를 보였다.

② 肝臟, 脾臟 및 胸腺의 重量變化 各 群의 肝臟,

Table 1. Effects of ginseng extracts on body weight on immunosuppressed mice by ethanol.

Group	Initial wt.(gm)	Final wt.(gm)	Increasing rat(%)
Normal	15.00 ± 1.12	23.21 ± 3.69	55.05 ± 16.69
EtOH	15.94 ± 1.15	22.49 ± 2.18	40.09 ± 7.42
EtOH + PG n-BuOH frt.	15.26 ± 0.86	24.84 ± 2.35	64.60 ± 14.60**
EtOH + PG EtOH ext.	15.40 ± 1.08	27.55 ± 2.85	79.16 ± 17.75**
EtOH + PG Petr.-ether ext.	15.30 ± 1.21	26.86 ± 2.84	75.98 ± 15.98**

Each value is the mean ± S.D. of 18~20 mice

Significant different from the ethanol treated group. (**p < 0.01) PG : panax ginseng.

Table 2. Effects of ginseng extracts relative organ weight on immunosuppressed mice by ethanol.

Group	Liverwt. (gm)(%)		Spleen wt. (mg) (%)		Thymus wt. (mg) (%)	
Normal	0.85 ± 0.14	3.82 ± 0.41	92.28 ± 21.01	0.42 ± 0.08	24.00 ± 5.21	0.14 ± 0.02
EtOH	1.31 ± 0.24	4.72 ± 0.54	182.57 ± 28.25	0.68 ± 0.13	66.33 ± 05.09	0.25 ± 0.05
EtOH ± PG n-BuOH frt.	1.12 ± 0.19	4.47 ± 0.45	175.00 ± 26.32	0.71 ± 0.08	56.44 ± 13.93	0.22 ± 0.06
EtOH ± PG EtOH ext.	1.14 ± 0.16	4.66 ± 0.14	150.17 ± 31.6	0.62 ± 0.07	36.88 ± 12.42	0.15 ± 0.04**
EtOH ± PG Petr.-ether ext.	1.22 ± 0.11	4.67 ± 0.56	153.12 ± 22.89	0.59 ± 0.12	50.86 ± 10.33	0.19 ± 0.03**

Each value is the mean ± S.D. of 18~20 mice.

Significant difference from the ethanol treated group. (**p < 0.01) PG: panax ginseng.

脾臟 및 胸腺의 變化는 Table 2 에서 보는 바와 같다. 肝臟對 體重 重量比는 EtOH 單獨投與群에 比하여 人蔘 EtOH 엑기스 併用投與群들이 若間 減少하였으나 有意性은 없었으며, 脾臟 對 體重 重量比는 EtOH 單獨投與群에 比하여 人蔘 EtOH 엑기스, 人蔘 石油 ether 엑기스 併用投與群은 各各 0.15 ± 0.04 %, 0.19 ± 0.03% 으로 현저하게 減少하였다.

2. 體液性 免疫反應에 미치는 影響

① 赤血球 凝集素價 및 溶血素價는 Table 3 과 같다. 赤血球凝集素價(HA titer)는 正常群이 6.87 ± 1.64 이고 EtOH 單獨投與群이 5.38 ± 1.19 로 減少한데 比하여 人蔘 EtOH 엑기스 人蔘 石油 ether 엑기스 併用投與群 各各은 8.00 ± 1.07, 7.00 ± 0.58 로서 顯著的 增加를 하였다. 또한 赤血球 溶血素價(HA titer)는 正常群이 3.38 ± 0.51 이고 EtOH 單獨投與群은 3.14 ± 1.24 로 減少하였고, 人蔘 EtOH 엑기스 併用投與群은 4.75 ± 1.28 로서 有意性있게 增加하였다.

② Arthus反應

Arthus反應의 結果는 Table 4 에서와 같이 足趾

Table 3. Effect of ginseng extracts on antibody production on immunosuppressed mice by ethanol.

Group	HA titer(log ₂)	HY titer(log ₂)
Normal	6.87 ± 1.64	3.38 ± 0.51
EtOH	5.38 ± 1.19	3.14 ± 1.24
EtOH + PG n-BuOH frt.	4.83 ± 1.60	2.50 ± 0.76
EtOH + PG EtOH ext.	8.00 ± 1.07**	4.75 ± 1.28*
EtOH + PG Petr.-ether ext.	7.00 ± 0.58**	3.39 ± 0.52

Mice were challenged with 1 × 10⁸ S-RBC 4 days after sensitization.

On the 5th day, the HA and HY titer were assayed.

Each value is the mean ± S.D.(log₂) of 18~20 mice.

Significant difference from the ethanol treated group.

(*p < 0.05, **p < 0.01) PG: panax ginseng.

腫脹의 두께는 正常群이 41.83 ± 6.88 이고 EtOH 單獨投與群은 35.27 ± 8.23 이며 人蔘 n-BuOH 分割, 人蔘 EtOH 엑기스, 人蔘 石油 ether 엑기스 併用投與群 各各은 46.86 ± 6.30, 46.66 ± 8.60, 48.69 ± 9.31 로서 對照群에 比해 顯著的 增加를 나타내었다.

Table 4. Effects of ginseng extracts on Arthus reaction on immunosuppressed mice by ethanol.

Group	FPSI
Normal	41.83±6.88
EtOH	35.27±8.23
EtOH+ PG n-BuOH frt.	46.86±6.30**
EtOH+ PG EtOH ext.	46.66±8.60**
EtOH+ PG Petr.-ether ext.	48.69±9.31**

Foot pad swelling was measured after the intradermal challenge of 1×10^8 SRBC.

$$RPSI = \frac{\text{Swelling of foot pad}}{\text{Thickness of foot pad}} \times 100$$

At 4 hours FPSI was the Arthus reaction.

Each value is the mean±S.D.

Significant difference from the ethanol treated group. (**p<0.01) PG: panax ginseng.

3. 細胞性 免疫에 미치는 影響

① 遲延型過敏反應

遲延型過敏反應(T-cell mediated hypersensitivity reaction)의 結果는 Table 5에서 보는바와 같다. 正常群이 16.39±3.69이고 對照群인 EtOH 單獨投與群이 14.47±4.48로 減少한데 比하여 人蔘 n-BuOH分割 併用投與群은 18.41±4.04로 有意性 있는 增加를 보였으며 人蔘 石油 ether엑기스 併用 投與群은 21.47±4.10으로 顯著한 增加를 나타내었다.

Table 5. Effects of ginseng extracts on DTH reaction on immunosuppressed mice by Ethanol.

Group	ESPI
Normal	16.39±3.69
EtOH	14.47±4.48
EtOH+ PG n-BuOH frt.	18.41±4.04*
EtOH+ PG EtOH ext.	16.67±5.04
EtOH+ PG Petr.-ether ext.	21.47±4.10**

Foot pad swelling was measured after the intradermal challenge of 1×10^8 SRBC.

$$FPSIS = \frac{\text{Swelling of foot pad}}{\text{Thickness of foot pad}} \times 100$$

At 24 hours FPSI was the DTH reaction.

Each value is the mean±S.D.

Significant difference from the ethanol treated group. (*p<0.05, **p<0.01) PG: panax ginseng.

Table 6. Effects of ginseng extracts on RFC on immunosuppressed mice by ethanol.

Group	RFC
Normal	14.62±1.09
EtOH	9.82±0.36
EtOH+ PG n-BuOH frt.	9.54±0.34
EtOH+ PG EtOH ext.	16.32±0.29**
EtOH+ PG Petr.-ether ext.	16.72±0.72**

Mice were challenged with 1×10^8 SRBC 4 days after sensitization.

On the 5th day, RFC were assayed.

$$RFC(\%) = \frac{\text{No. of rosette forming cells}}{\text{Total cell counted} \times \% \text{ Viability}} \times 100$$

Each value is the mean±S.D. of 18~20 mice.

Significant difference from the Ethanol treated group. (**p<0.01) PG: panax ginseng.

② 脾臟의 rosette 形成細胞

脾臟 rosette 形成細胞는 Table 6에서 보는바와 같이 正常群이 14.62±1.09이고, 對照群인 EtOH 單獨投與群이 9.82±0.36으로 減少한데 比하여 人蔘 EtOH엑기스, 人蔘 石油 ether엑기스 併用投與群은 各各 16.32±0.29, 16.72±0.75로서 顯著한 增加를 보였다.

4. 末稍循環 白血球 및 大食細胞 活性에 미치는 影響

① 大食細胞의 活性

大食細胞의 貪食能力을 測定하여 phagocytic

Table 7. Effects of ginseng extracts on the phagocytic activity on immunosuppressed mice by ethanol.

Group	Phagocytic index
Normal	4.80±0.86
EtOH	3.90±0.36
EtOH+ PG n-BuOH frt.	4.75±1.17*
EtOH+ PG EtOH ext.	4.57±0.77*
EtOH+ PG Petr.-ether ext.	4.44±0.58*

Phagocytic index is a constant obtained from a formula relating the cube root of K to the ratio of body weight to the weight of the liver and spleen.

Each value is the mean±S.D. of 18~20 mice.

Significant difference from the ethanol treated group. (**p<0.05) PG: panax ginseng.

Table 8. Effects of ginseng extracts on peripheral WBC on immunosuppressed mice by ethanol.

Group	WBC(/mm ³)
Normal	5,000±1,620
EtOH	7,300±1,037
EtOH+ PG n-BuOH frt.	6,000±1,141*
EtOH+ PG EtOH ext.	5,167±850**
EtOH+ PG Petr.ether ext.	7,166+850

Each value is the mean±S.D.
Significant difference from the ethanol treated group. (*p<0.05, **p<0.01) PG: panax ginseng.

index로 환산한 결과는 Table 7에서 보는 바와 같다. 정상群에서 4.80±0.86이고 對照群인 EtOH 單獨投與群 이는 Table 8과 같다. 정상群에서는 WBC가 5,000±1.620이고 EtOH 單獨投與群은 7,300±1,037으로 增加한데 반해 人蔘 n-BuOH分劃 併用投與群은 6,000±1,414로서 有意性있는 減少를 보였으며 人蔘 EtOH엑기스 併用投與群에서는 5,167±850으로 顯著한 減少를 보였다.

고찰

만성 알콜毒狀態에서 Isselbacher는 體重減少를 報告하였으며²³⁾, Lieber 등은 成長速度가 느리다고 報告하였고²⁴⁾ Balazs는 重要臟器의 肥大 현상을 報告하였다²⁵⁾. 본 實驗에서 ethanol 單獨投與群은 正常群에 비해 體重減少現象을 나타냈으나 人蔘 EtOH엑기스 併用投與에 의해 體重增加를 보였다. 이는 人蔘 成分의 免疫修飾作用의 影響이라고 思料된다. 脾臟은 淋巴球 및 網內系 細胞로 構成되어 있는 末稍免疫臟器로 免疫反應에 重要한 역할을 하고 있다²⁶⁾. 본 實驗에서 EtOH 單獨投與時 脾臟의 重量이 增加한데 비해 人蔘 EtOH엑기스와 人蔘 石油 ether엑기스의 併用投與群에서 脾臟의 重量이 減少된 것으로 미루어 人蔘이 若干의 影響이 있는 것으로 보인다. 또한 胸腺은 中樞淋巴組織으로 T-淋巴球의 分化에 깊이 關係하고 있는바 본 實驗에서 ethanol 單獨投與時 胸腺 重量이 增加하였으나 人蔘의 成分에 의해 胸腺의 重量이 減少한 것으로 미루어 이는 人蔘이 ethanol의 免疫抑制作用을 阻止

하는 것으로 보인다.

體液性 免疫反應 가운데 T-淋巴球 依存性 抗原의 緬羊赤血球에 對한 免疫血清抗原體의 量을 나타내는 指標인 赤血球凝集少 및 溶血素의 測定은 血中 體液性 免疫抗體의 消長을 測定하는데 널리 利用되고 있다²⁷⁾. 본 實驗에서 赤血球 凝集素價 및 溶血素價는 EtOH 單獨投與에 의해 減少되었고 人蔘 EtOH엑기스 人蔘 石油 ether엑기스 併用投與群에서는 赤血球 凝集素價가 正常群에 上廻하였고, 人蔘 EtOH엑기스 併用投與群은 赤血球 溶血素價가 正常群에 上廻하였다. 이는 金 등이 人蔘 石油 ether엑기스 併用投與 實施한 免疫修飾 實驗에서와 유사한 用量依存的인 抗體性産誘發現象을 觀察한 점으로 미루어²⁸⁾ 人蔘 石油 ether엑기스와 人蔘 EtOH엑기스 併用 投與가 Ethanol에 依하여 亢進된 suppressor T-cell의 機能을 抑制하거나 helper T-cell의 機能을 亢進 修飾한데 起因한 것으로 思料된다.

Arthus反應은 多型核百血球에 依한 抗原抗體複合體 및 補體 등의 大分子의 貪食에 의해 遊離되는 lysosomal enzyme에 依하여 일어나는 抗體 媒介型 過敏反應現象으로 對照群에 Arthus反應이 低下되었으나 人蔘 엑기스 併用投與群에 의하여 顯著하게 增加한 것은 人蔘엑기스에서 顯著 免疫亢進作用을 나타낸 免疫修飾作用에 起因한 것이라 思料된다.

한편, 遲延型過敏反應은 感作 T-cell에 의해 遊離된 lymphokine 등의 化學的 傳達物質에 依한 細胞性 免疫反應으로 特히 大食細胞가 깊이 關係하는 바 본 實驗에서 ethanol 投與에 의하여 DTH가 低下하였으나 人蔘 n-BuOH分劃 및 人蔘 石油 ether엑기스의 併用投與에 依하여 增加한 점으로 보아 細胞性 免疫修飾機能이 強化되었다고 思料된다.

脾臟細胞의 rosette型 成能은 주로 T-cell에 依해서 形成되는바²⁹⁾ 본 實驗에서는 ethanol投與에 依하여 低下하였으나 人蔘 EtOH엑기스와 人蔘 石油 ether엑기스 併用投與에 이어서 rosetere型 成能이 增加한 것으로 보아 T-cell의 機能을 選擇적으로 자극하였을 機能성과 S-RBC와 結合할 수 있는 淋巴球膜에 人蔘 EtOH엑기스와 人蔘 石油 ether엑기스

가 작용한 것으로 思料된다.

大食細胞는 免疫反應에 重要한 役割을 하는 細胞로 carbon clearance test는 in vivo에서 細胞內皮系로 靜脈注射한 carbon分子는 肝의 kupffer cell에서 40%가, 脾臟의 大食細胞에 依해 10%가 除去되는 것으로 알려져 있다. 本 實驗에서는 對照群이 正常群에 比하여 減少한데 반해 人蔘엑기스 投與로 有意性있게 增加한 점으로 미루어 人蔘엑기스가 大食細胞活性回復作用이 있는 것으로 思料된다. 末稍循環 白血球는 ethanol 單獨投與時 顯著히 增加하였으나 人蔘 n-BuOH分劃과 人蔘 EtOH엑기스 併用投與에 依해 減少하여 正常群에 거의 到達하였다.

以上 本 實驗을 結合하면 ethanol의 免疫毒性에 대하여 人蔘 EtOH엑기스 엑기가스가 生體를 顯著히 保護하는 作用이 있음을 觀察하였다.

結 論

Mouse에 있어서 ethanol의 免疫毒性에 人蔘엑기스의 影響은 다음과 같다.

1. EtOH 單獨投與群에서 減少된 體重을 人蔘 EtOH엑기스, 人蔘 石油 ether엑기스 및 人蔘 n-BuOH分劃, 併用投與群에서 顯著하게 回復시켰으며, EtOH 單獨投與群에서 增加된 胸腺의 重量을 人蔘 EtOH엑기스와 人蔘 石油 ether엑기스 併用投與群에서는 減少시켰다.

2. 體液性 免疫은 EtOH 單獨投與群에 依하여 減少하였으나 人蔘 石油 ether엑기스와 人蔘 EtOH엑기스 併用投與群은 HA, HY 및 Arthus反應을 增加시켰다.

3. 細胞性 免疫은 EtOH 單獨投與群에서 減少하였으나 人蔘 n-BuOH分劃, 人蔘 EtOH엑기스 및 人蔘 石油 ether엑기스 併用投與群에서 增加되었다.

4. 末稍循環 白血球는 EtOH 單獨投與群에서 增加되었으나 人蔘 n-BuOH分劃, 人蔘 EtOH엑기스 및 人蔘 石油 ether엑기스 併用投與群에서 減少되었다.

REFERENCES

1. Galamros, J.T.: Alcohol and liver disease. *Am. J. Digest. Dis.*, **14**(7), 477 (1969)
2. Rubin, E., et al.: Ethanol increase hepatic smooth endoplasmic reticulum and drug-metabolizing enzymes. *Science*, **159**, 1469 (1968)
3. Rubin, E., et al.: Experimental alcoholic hepatitis. *Science*, **182**, 305 (1973)
4. Lieber, C.S., et al.: Effects of prolonged ethanol intake in man, Role of dietary adipose and endogenously synthesized fatty acid in the pathogenesis of the alcoholic fatty liver. *J. Clin. Invest.*, **45**, 1400 (1966)
5. Demeo, AN. and Andreson, B.R.: Defective chemotaxis associated with a serum inhibitor in cirrhotic patients. *N Engl. J. Med.*, **286**, 735 (1972)
6. Tennenbaum, J.I., Ruppert, R.D., St. Pierre, R. L., et al.: The effects of chronic alcohol administration on the immune responsiveness of rats. *J. Allergy*, **44**, 272 (1969)
7. Loose, L.D., Stege, T. and Dr. Luzio, N.R.: The influence of acute and chronic ethanol or bourbon administration on phagocytic and immune response in rats. *Experimental and Molecular Pathology*, **23**, 459 (1975)
8. Mcfarland, W. and Libre, E.P.: Abnormal leukocyte response in alcoholism. *Ann. Intern. Med.*, **59**, 865 (1963)
9. Berenyi, M.R., Straus, B. and Cruz, D.: In vitro and in vivo studies of cellular immunity in alcoholic cirrhosis. *An. J. Dig. Dis.*, **19**, 199 (1974)
10. 최중원, 이상일, 허근, : 만성 alcohol 섭취 mouse에서 alcohol 대사효소활성에 미치는 人蔘의 影響, *대한약학회지* **20**, 13 (1984)
11. Brekhman, I.I. and Dardmov, I.V.: *Ann. Rev. Pharmacol.*, **9**, 419 (1969)
12. Lee, K.D. and Huemer, R.P.: Antitumoral activ-

- ity of panax ginseng extracts. *Japan J. Pharmacol.*, **21**, 229 (1971)
13. Hwang, W.I. and Oh, S.K.: A study on the anticancer activities of lipid soluble ginseng extract and ginseng saponin derivatives against some lipid soluble ginseng extract and ginseng saponin derivatives against some cancer cells. *Korean J. Ginseng Sci.*, **8** (2), 153 (1984)
 14. Yun, T.K., Yun, Y.S. and Han, I.W.: An experimental study on tumor inhibitory effect of red ginseng in mice and rats exposed to various chemical carcinogens. Proc. of the 3rd International Ginseng Symposium (Korea, Sept. 8~10), 87 (1980)
 15. Jie, Y, H., Cammisuli, S. and Baggiolini, M.: Immunomodulatory effects of panax ginseng C. A. Meyer in the mouse. *Agents and Actions*, **15** (3/4), 386 (1984)
 16. Namba, T. and Yoshizaki, M.: *Yakukaku-Zasshi* (Japan), **94**, 252 (1974)
 17. Mackaness, G.R., Lagrange, T. Ishibashi: The modifying effect of BCG on the immunological induction of T-cell. *J. Exp. Med.*, **1540** (1974)
 18. Reed, N.D., Crowle, P.K. and Ha, T.: Use of mast cell deficient mice to study host parasite relationships In immuno-deficient animals, B, Ssordet ed. Karger Baselip 184 (1984)
 19. Garvey, B, Cremer, H.E., Sussclorf, D.H. Methods in immunolog 3rd, 449 (1980)
 20. Sugimoto, Kojima, A.M., Yaginuma, K. and Gashira, Y.E.: Cell mediated and humoral immunity in mice. *JPA. J. Med Sci. Biol.*, **28**, 23 (1975)
 21. Elliott, B.E., J.S. Haskill: Characteristics of thymus-derived bonemarrow-derived rosette forming lymphocytes. *Eur. J. Immunol.*, **3**, 58 (1973)
 22. Boxxi, G., Benacerraf, B., Stiffel, C. and Halpern, B.N.: Etude quantitative de l'activite granulopexique du systeme reticulo-endothelial chez la souris. *C.S. Soc. Biol. Paris.*, **148**, 431 (1954)
 23. Isselbacher, K.J.: Metabolic and Hepatic effect of alcohol. *New Eng. J. Med.*, **296**, 11, 612 (1977)
 24. Lieber, C.S., et al.: Effects of prolonged ethanol intake: Production of fatty liver despite adequate diets. *J. Clin. Invest.*, **44**, 6, 1009 (1965)
 25. Balazs, T.: Hepatic reactions to chemicals in toxicology: Principles and practice Vol. I, ed by A. L. Reeves, John Wiley and Sons, N.Y., U.S. A., 93 (1981)
 26. Simonsen, M.: Graft versus host reaction. Their natural history and applicability as tools of research. *Progr. Allergy*, **6**, 349 (1961)
 27. Kim, J.H.: Immunobiological studies in mice treated with chemical carcinogen 3-methylen oranthrene, Dept. of Vet. Med. Jeonbuk. National Univ. graduated school (1983)
 28. Kim. H.B.: The effect of ginseng petroleum ether fraction on immunosuppressed mice by lead acetate, 원광대학교 약학박사학위 (1986)
 29. Back, J.F. and Dardenne, M.: Antigen recognition by T lymphocytes. *Cell Immunol.*, **3**, 1 (1972)