

## 백삼성분이 마우스 복강 탐식세포의 기능 및 유전자 발현에 미치는 영향

배 지 현

계명대학교 식품영양학과

### Effect of White Ginseng on the Function of Mouse Peritoneal Macrophages and their Gene Expression

Ji-Hyun Bae

Dept. of Food Science and Nutrition, Keimyung University, Daegu 705-701, Korea

#### Abstract

In order to investigate the immunomodulatory mechanism of white ginseng, the effects of total saponin or Ginsenoside Rb<sub>2</sub> component on the phagocytosis and reactive oxygen intermediate(ROI) production of mouse peritoneal macrophages were studied. Both phagocytosis assay and nitrobluetetrazolium reduction test showed 20μg/ml concentration of total saponin significantly increased the activity of phagocytosis and production of ROI. Also cytokine gene expression of the macrophages was analyzed using reverse transcription polymerase chain reaction. In the RT-PCR assay, 20μg/ml concentration of either total saponin or Ginsenoside Rb<sub>2</sub> increased IL-1 and TNF expression of the macrophages.

**Key words:** white ginseng, macrophages, phagocytosis, ROI, cytokine, gene expression

#### 서 론

인삼은 예로부터 보약이나 민간요법제로 널리 이용되어져 왔다. 전통 동양의학의 근본적 접근 방식이 생체저항이나 방어능력의 강화, 즉 인체의 면역기능을 조절하는 것이라 생각해 볼 때 한방에서 중요한 약재로 사용되고 있는 인삼이 면역기능을 향진시키라는 것은 쉽게 예측할 수 있다. 인삼의 생물활성을 검색한 연구는 주로 항산화작용(1-4)을 중심으로 항암작용(5), 노화억제작용(6), 미생물의 생육(7)이나 생리(8), 효소 생성(9) 등에 미치는 효과 등이 있으며, 인삼이 면역계에 미치는 영향에 관한 연구는 주로 림프구(10)와 natural killer(NK) cell(11) 등을 가지고 진행되어 왔다. 그러나 인삼성분이 외부형원에 대해 1차 주요 방어기능을 담당하는 탐식세포에 미치는 영향에 관한 연구는 거의 보고된 바 없어 이에 대한 인삼의 역할은 정확히 알려지지 않고 있다. 인삼이 biological response modifier(B-RM)로서 면역세포의 기능에 미치는 영향을 cytokine 유전자 발현 수준을 조사하여 해석하려는 시도가 분자 생물학의 발전과 더불어 행해지고 있다. 본 실험에서는 탐식세포의 탐식능이나 반응-산소중간물질 생성능 뿐만 아니라 cytokine이나 B7 등 탐식세포의 기능에 중요한

유전자의 발현에 백삼성분이 어떠한 영향을 미치는지 조사해 보고자 하였다. 백삼에 의한 대식세포의 기능변화 및 그 기전을 유전자 수준에서 이해함으로써 생체내의 복잡다양한 면역반응조절에 백삼의 이용가능성을 넓히고자 한다.

#### 재료 및 방법

##### 백삼 시료

백삼의 total saponin 및 Ginsenoside Rb<sub>2</sub>성분은 한국인삼연초연구소로부터 제공받아 사용하였으며 이를 10% fetal bovine serum이 들어있는 RPMI 1640(Gibco, BBL) 배지에 10mg/ml 농도로 용해하고 여과 살균한 후 cryoprotective vial(Corning Co.)에 분주, -20°C에 냉동 보관하면서 필요시마다 1개씩 취하여 사용하였다.

##### 실험동물

실험에 사용한 마우스는 생후 6~8주 가량된 체중 20~25g의 ICR 마우스로 본교의 의과학연구소 동물실험사육실에서 기른 후 수컷만을 골라 사용하였다. 사

육실 온도는 22°C 내외, 습도는 55~60%로 유지하고 light dark cycle<sup>o</sup>] 12시간 단위로 조절되게 한 후, 마우스용 고형사료와 물을 제한없이 공급하였다.

### 마우스 복강 대식세포의 분리 및 배양

각 실험조건에 따른 sample당 3마리 마우스의 복강을 전처리없이 약 10ml의 RPMI 1640배지를 넣어 씻어낸 다음 추출된 대식세포를 두번 정도 원심 세척하였다. 10% FBS와 항생제가 첨가된 RPMI 10배지에 2×10<sup>6</sup>cells/ml농도로 조절한 부유세포를 넣고 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에 약 3시간 정도 배양시킨 후, 부착되지 않은 세포를 PBS(phosphate buffered solution)로 씻어버렸다. 부착된 세포에 RPMI 10 배지나 total saponin 또는 Ginsenoside Rb<sub>2</sub>를 넣어주고 실험 목적에 맞게 배양하였다(12).

### Phagocytosis 측정

1×10<sup>6</sup>cells/ml로 조정된 세포부유액 0.5ml와 yeast (*Saccharomyces cerevisiae*)를 PBS에 가하고 100°C에서 3분간 가열하여 얻은 yeast 부유액(2.5×10<sup>8</sup>cells/ml) 0.05ml를 합하여 원심세척한 후 RPMI 10 배지 0.4ml와 마우스 혈청 100μl를 넣고 30°C, incubator에 1시간 동안 두었다. 배양이 끝난 후 fuchsin 한 방울을 떨어뜨려 염색하고 PBS 3ml를 넣어 원심세척하였다. cell pellet을 PBS 0.4ml에 부유시켜 Haematometer로 관찰하여 한 세포당 적어도 2개 이상의 yeast가 탐식된 것을 phagocytosis가 일어난 것으로 간주하였다(13).

### Reactive oxygen intermediate(ROI, 반응산소종 간물질) 측정

백삼이 대식세포의 respiratory burst activity를 통한 반응산소종간물질 생성에 어떠한 영향을 미치는가를 조사하기 위해 nitrobluetetrazolium(NBT)<sup>o</sup>] blue formazan으로 환원되는 정도를 측정하였다. 마우스 복강 세포액을 2×10<sup>5</sup>cells/ml 농도로 조절하여 35mm culture plate에 2ml씩 분주한 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에 3시간 배양하였다. 부착되지 않은 세포를 씻어내고 PBS에 mix한 NBT를 넣고 37°C incubator에 15분간 배양시켰다. 생성된 blue formazan은 현미경하에서 분석, 세포수 200개당 formazan<sup>o</sup>] 형성된 양성세포의 수를 계측하였다(14)

### RNA 분리 및 농도 측정

비교군과 백삼의 total saponin 또는 Ginsenoside

Rb<sub>2</sub>성분으로 자극한 실험군의 대식세포를 scraper로 긁어 수거한 후 RNazol B(Cinna Co.)를 사용하여 total RNA를 추출하였다. RNazol B 1ml를 첨가하여 15초간 vortexing하고 chloroform 100μl를 첨가한 후 다시 15초간 vortexing 한 뒤 얼음에 10분간 방치하였다 세포용해액을 원심분리(12,000rpm, 15min, 4°C)한 뒤 상층액을 취하여 새로운 시험판에 옮기고 동량의 ice-cold isopropanol을 첨가. -20°C에 하룻밤 두어 RNA를 침전시켰다. 원심분리(12,000rpm, 15min, 4°C)하여 RNA pellet을 수거하고 0.8ml의 75% ethanol을 첨가, 원심세척한 뒤 Speed Vac(DNA plus. Heto lab. equipment)으로 건조시켰다. 여기에 30μl nuclease free distilled water를 첨가하고 80°C에 10분간 두어 RNA pellet을 완전히 녹인 후, UV-spectrophotometer(Beckman Co.)로 RNA농도와 순도를 측정하였다(15)

### Genebank search에 의한 primer 제작

본 실험에 사용한 마우스의 β-actin, B7 및 각종 cytokine 유전자 정보를 Genebank database system을 이용하여 확보하고 단백질 지령 부위의 ATG codon을 중심으로 sense primer를, termination codon을 중심으로 antisense primer를 design하였다(Table 1). Design 한 각 primer는 한국생공에 의뢰해 제작하였고, 1.5ml Eppendorf tube에 50pmole농도로 회색, 소분하여 -20°C에 냉동 보관하면서 사용하였다. 산생될 cDNA구조는 DNAsis(Hitachi Co.) computer program을 이용하여 분석하였다.

### Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) 및 전기영동

β-actin, B7 및 각종 cytokine 유전자 발현능을 조사하기 위해 RT-PCR법을 이용하였다. RT-PCR은 Perkin Elmer사의 RT PCR kit를 이용하여 RT reaction mixture를 만들고 여기에 80°C에서 10분간 변성시킨 total RNA를 200ng/μl 농도로 첨가한 후 mineral oil을 첨가, 실온에 10분간 두었으며 PCR machine(Perkin Elmer Cetus 480)을 이용하여 역전사시켰다(42°C, 60min; 95°C, 5min). 생성된 RT product에 PCR mixture를 첨가한 후 94°C, 1min; 56°C, 1min; 72°C, 1min을 1cycle로 하여 총 23~28 cycles를 반응시켰으며, 마지막으로 72°C에 5분간 두어 cDNA합성을 연장시킨 후 PCR을 종료하였다. RT-PCR의 정확성을 확인하기 위해 internal standard로 β-actin gene을 동시에 증폭시켰다. 생성된 PCR product 15μl에 3μl의 6X gel loading buffer를

Table 1. Primer sequences used for the detection of gene expression

Primer name	Oligonucleotide sequence
β-actin S	5'-ATGTGGCTGCAGAGCCTGCTGCTC-3'
β-actin AS	5'-ACTCCTGGACTGGCTCCCAGCAGTC-3'
IFN-α S	5'-CCATGTCCCGGCCCTTGCTTTACTG-3'
IFN-α AS	5'-TTATTCCCTCCCTCCTTAATCTTCTT-3'
GM-CSF S	5'-ACATGTGGCTGCAGAGCCTGCTGCTC-3'
GM-CSF AS	5'-TCACTCCTGGACTGGCTCCCAGCAGT-3'
TNF S	5'-ATGAGCACTGAAAGCATGATC-3'
TNF AS	5'-TCACAGGGCAATGATCCCAAAGTA-3'
IL-1 S	5'-CCATGGCAGAAGTACCTGAGTCTGCC-3'
IL-1 AS	5'-TTAGGAAGACACAAATTGCATGGT-3'
IL-6 S	5'-ATGAACTCCTCTCCACAAGCGCAG-3'
IL-6 AS	5'-CTACATTTGCCGAAGAGGCCCTCAGG-3'
TGF-β	5'-CCATGCCGCCCTCCGGCTGCGGCTG-3'
TGF-β	5'-TCAGCTGCACTTGCAAGAGCGCACGA-3'
MIF S	5'-CTCCTGGTCCTTCTGCCATCATGCGC-3'
MIF AS	5'-CGTGGGTCCCTGCGCTCTAGGCGC-3'
B7 S	5'-ACTCTCACTCTGTGTCGTAAGAACG-3'
B7 AS	5'-GAGTGGTGTATCCGGCATCAAGGCG-3'

S: Sense primer, AS: Antisense primer

첨가하고 1.5% agarose gel상에서 100 bp size marker와 함께 100V로 20분간 전기영동시킨 후 각각의 cDNA를 판찰하였다(16).

## 결과 및 고찰

### Phagocytosis

대식세포나 호산구, 호중구 등의 식작용을 하는 세포들이 세균 등의 세포외 입자를 삼키는 작용을 탐식(phagocytosis)이라 부르는데 이는 세포막이 내측으로 힘몰해서 이 물질을 융합하는 endocytosis와는 달리 세포 표면에서 위쪽이 뻗어나가 입자를 둘러싸고 소포화하여 세포질로 흡입하는 작용이다(17). 배설이 탐식과 같

은 비특이적인 면역반응을 항진시키는지의 여부를 조사하기 위해 마우스 복강세포에 항원으로 yeast를 투여하고 이들의 탐식정도를 측정하였다. 본 실험 결과 세포배양액에 20μg/ml 농도의 total saponin을 첨가한 경우 대식세포의 phagocytic 활성이 유의적으로 증가함을 관찰할 수 있었다(Table 2).

### Reactive oxygen intermediate(ROI) 분비능 측정

대식세포가 외부로부터의 특정자극에 노출되면 O<sub>2</sub> uptake속도가 현저하게 증가되고 superoxide(O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hydrogen peroxide(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), hydroxyl radical(OH) 등의 반응산소중간물질이 생성되기 시작한다. 급격한 oxygen uptake로 인해 'respiratory burst'라고도 하나 실제 이

Table 2. Effect of white ginseng on the phagocytic activity of mouse peritoneal macrophages

Sample(Concentration)	Phagocytic activity (%)	Phagocytosis occurred cell No	Total counted cell No.
Control	11.5	23± 5	200
Total saponin(2μg/ml)	14	28± 7	200
Total saponin(20μg/ml)	59	118± 15*	200
Total saponin(200μg/ml)	15.5	31± 8	200
Ginsenoside Rb <sub>2</sub> (2μg/ml)	17	34± 6	200
Ginsenoside Rb <sub>2</sub> (20μg/ml)	21.5	43± 8	200
Ginsenoside Rb <sub>2</sub> (200μg/ml)	19	38± 7	200

Each value is mean±S D. of triplicates

\*Significantly different at p<0.05

런 현상은 에너지를 생성하기 위함이 아니라 cytotoxic agents를 만들기 위해 일어난다(18). 즉 대식세포의 살균작용에 중요한 역할을 하는 O<sub>2</sub><sup>-</sup>(superoxide)는 세포 내 O<sub>2</sub>로부터 만들어져 항균작용을 가지게 되는데 현재 까지 알려진 기전은 다음과 같다. 대식세포의 Fc receptor가 외부에서 들어온 ligand와 결합하면 IP<sub>3</sub>와 DAG를 매개로 한 signal transduction에 의해 세포내 protein kinase C(PKC)가 활성화되고 활성화된 PKC에 의해 인산화된 NADPH oxidase가 O<sub>2</sub>를 O<sub>2</sub><sup>-</sup>로 환원시키게 된다(19). Superoxide dismutase(SOD)에 의해 O<sub>2</sub><sup>-</sup>는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 전환되고, myeloperoxidase(MPO)에 의해 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>는 Cl<sup>-</sup> 등의 할로겐과 반응해서 OCl<sup>-</sup>, HOCl 및 Cl<sub>2</sub> 등의 강력한 항균활성을 지닌 물질을 만든다. 이와같은 반응 산소중간물질(ROI)에 의한 항균활성은 대식세포내로 흡입된 대부분의 병원체를 효과적으로 제거하게 된다(20). 백삼성분이 대식세포의 ROI분비능에 미치는 영향을 살펴본 바 Table 3과 같은 결과를 얻을 수 있었다. 각 실험군 별로 전체 200개의 세포를 계수하여 blue formazan을 형성하는 실험군을 조사해 본 결과 20μg/ml 농도의 total saponin을 투여한 군에서 반응산소중간물질의 생성이 유의적으로 증가함을 알 수 있었다.

### Cytokine 유전자 발현

대식세포는 생체방어에 꼭 필요한 각종 물질을 만들어 세포외로 분비하게 되는데 이러한 물질에는 보체의 각 성분, 응고계의 각 인자, 임파구를 포함한 각종 혈액세포의 증식인자, cytokine 등이 있다. 이중 근접한 세포간의 signal을 전달하는 방법 중의 하나로 분비되는 cytokine은 비특이적으로 작용하여 세포의 분화와 증식에 영향을 미친다. 인삼의 주요 성분인 saponin은 인삼(ginseng)에 함유된 배당체(glycoside)라는 뜻으로 ginsenoside라고도 명명되고 있다. TLC에 의한 분획 이동거리 순으로 현재까지 규명된 saponin은 총 29종으로 특히 Ginsenoside Rb<sub>2</sub> 성분은 인삼의 배당체 구조

중 R1과 R4 위치에 당이 결합된 protopanaxadiol의 일종이다(21). 백삼이 면역계에 미치는 영향을 연구한 결과로는 백삼의 saponin이 면역계 세포의 분화 및 증식에 미치는 영향을 관찰한 것으로 T-cell, thymocyte, B-cell 및 natural killer cell 등의 증식을 유도하며 이들을 활성화시키는 것으로 알려지고 있다(10,11). 백삼의 Ginsenoside Rb<sub>2</sub> 성분은 항산화효과(21)나 angiogenesis의 저해작용을 통한 항종양효과(22) 및 당뇨쥐의 대사변경(23) 등이 알려지고 있으나 면역계에 미치는 영향은 보고된 바가 없다. 본 실험에서는 백삼의 total saponin 또는 Ginsenoside Rb<sub>2</sub> 성분이 마우스 복강 대식세포의 각종 cytokine 분비에 미치는 영향을 RT-PCR법을 이용하여 검색하였다. RT-PCR법은 세포에서 분리한 total RNA를 oligo dT primer와 reverse transcription을 이용하여 cDNA로 만들고 이것에 측정하고자 하는 cytokine에 특이적인 primers를 적용, polymerase chain reaction으로 증폭시킴으로 초기의 mRNA 양을 비교하는 방법이다. 백삼의 total saponin 또는 Ginsenoside Rb<sub>2</sub> 성분을 농도별(2μg/ml, 20μg/ml, 200μg/ml)로 각각 배지에 첨가한 후 배양 후 2시간, 4시간 및 8시간 때 세포를 각각 수거하여 RT-PCR법으로 β-actin을 비롯한 각종 cytokine의 cDNA를 증폭시켰다. 이들의 발현 최적시간은 4시간이었으며 다음과 같은 결과를 얻었다. 세포내 house keeping gene으로 항상 동일한 양이 발현되는 β-actin은 대조군이나 인삼투여군 모두에서 일정한 양이 발현되었고 Interferon(IFN)-α나 granulocyte macrophage colony stimulating factor(GM-CSF) 등은 발현이 일어나지 않았다(Fig. 1). TNF나 IL-1의 경우 20μg/ml 농도의 백삼성분을 투여한 실험군에서 대조군에 비해 발현이 증가함을 보였으나 IL-6이나 TGF-β 등의 발현은 검출할 수 없었다(Fig. 2). 대식세포는 탐식작용에 의한 1차 생체방어기능 뿐만 아니라 antigen presenting cell로서의 역할을 담당하여 임파구에 의한 특이적 면역반응을 조절하기도 한다. 이 때

Table 3. Effect of white ginseng on the production of ROI from mouse peritoneal macrophages

Sample(Concentration)	ROI production (%)	Blue formazan forming cell No.	Total counted cell No
Control	16.5	33± 4	200
Total saponin(2μg/ml)	17.5	35± 5	200
Total saponin(20μg/ml)	52	104± 17*	200
Total saponin(200μg/ml)	17	34± 7	200
Ginsenoside Rb <sub>2</sub> (2μg/ml)	20	40± 8	200
Ginsenoside Rb <sub>2</sub> (20μg/ml)	27.5	55± 10	200
Ginsenoside Rb <sub>2</sub> (200μg/ml)	23	46± 4	200

Each value is mean±S. D. of triplicates

\*Significantly different at p<0.05

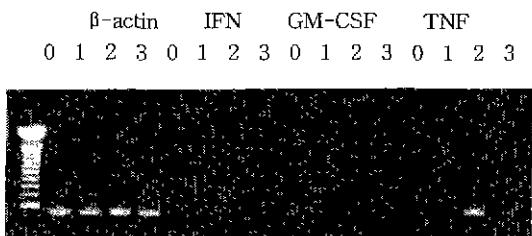


Fig. 1. Effects of white ginseng on the IFN, GM-CSF and TNF gene expression of mouse peritoneal macrophages.

Mouse peritoneal macrophages treated with total saponin or Ginsenoside Rb<sub>2</sub> at the 2μg/ml(lane 1), 20μg/ml(lane 2), 200μg/ml(lane 3) or control(lane 0) were cultured for 4hrs. Complementary DNA of β-actin, IFN, GM-CSF and TNF were amplified from RNA of each sample by RT-PCR.

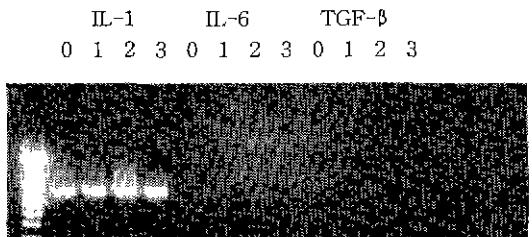


Fig. 2. Effects of white ginseng on the IL-1, IL-6 and TGF-β gene expression of mouse peritoneal macrophages.

Mouse peritoneal macrophages treated with total saponin or Ginsenoside Rb<sub>2</sub> at the 2μg/ml(lane 1), 20μg/ml(lane 2), 200μg/ml(lane 3) or control(lane 0) were cultured for 4hrs. Complementary DNA of IL-1, IL-6 and TGF-β were amplified from RNA of each sample by RT-PCR.

MHC와 더불어 탐식세포의 표면에서 발현되어 항원제공세포로서의 기능을 담당케 하는 보조인자로 B7이 있다. 본 실험에서 백삼성분이 대식세포의 B7 발현에 미치는 영향을 조사하여 항원제공세포로서의 기능변화를 살펴보았다. Fig. 3에서와 같이 백삼성분이 B7 gene의 발현에 미치는 영향은 크게 나타나지 않았고, 대식세포의 유주저지인자인 MIF(macrophage migration inhibitory factor)발현도 대조군과 실험군에서 별 차이를 보이지 않았다. 백삼의 total saponin과 Ginsenoside Rb<sub>2</sub> 성분간의 차이는 확인할 수 없었으며 cytokine 유전자 발현에 미치는 두성분의 효과는 동일하였다. 20μg/ml 농도의 백삼성분을 투여했을 때 발현의 증가를 보이는 cytokine은 TNF와 IL-1으로 드러났으며 이들이 면역계에 미치는 영향은 다음과 같다. IL-1은 임파구가 cell cycle의 G<sub>1</sub>초기에서 후기로 진행하는 것을 촉진시키며 helper T-cell에 IL-2, IL-4, IFN 등의 생성을 유도

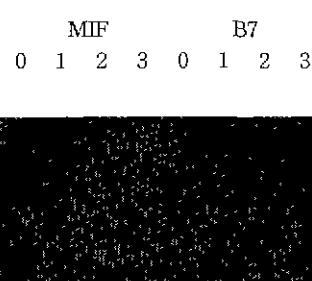


Fig. 3. Effects of white ginseng on the MIF and B7 gene expression of mouse peritoneal macrophages. Mouse peritoneal macrophages treated with total saponin or Ginsenoside Rb<sub>2</sub> at the 2μg/ml(lane 1), 20μg/ml(lane 2), 200μg/ml(lane 3) or control (lane 0) were cultured for 4hrs. Complementary DNA of MIF and B7 were amplified from RNA of each sample by RT-PCR

시키고 NK cell에 IL-2 receptor 발현을 자극한다. 또한 B-cell<sup>a</sup> pre B-cell로부터 성숙하는 단계와 항원자극에 의해 종식하는 단계에 직접 또는 Th cell을 경유하여 작용함으로써 이들의 분화, 종식을 촉진시킨다(24,25). 이와같이 IL-1은 감염에 대한 숙주의 면역반응에 다양한 매개작용을 통하여 생체방어에 중요한 역할을 담당하게 된다. 한편 TNF(Tumor necrosis factor)는 α와 β 두종류로 구분되는데 이중 대식세포에 의해 분비되어 항종양활성을 나타내는 종양세포 상해인자는 TNFα로 IL-1과 더불어 면역계와 염증계에 중요한 역할을 한다(26). 이상의 결과 백삼성분은 마우스복강 대식세포의 TNF와 IL-1유전자 발현을 증가시켜 여러가지 면역반응의 조절에 관여할 가능성이 있음을 알 수 있었다.

## 요약

백삼이 면역계에 미치는 작용기전을 알아보기 위하여 백삼의 total saponin이나 Ginsenoside Rb<sub>2</sub> 성분이 마우스 복강 대식세포의 탐식기능 및 반응산소증간물질 생성에 미치는 영향과 cytokine 유전자 발현에 미치는 영향을 조사해 보았다. Total saponin 또는 Ginsenoside Rb<sub>2</sub> 성분을 탐식세포 배양액에 농도별(2μg/ml, 20μg/ml, 200μg/ml)로 첨가하여 배양한 후 phagocytosis assay와 nitrobluetetrazolium reduction test를 실시하였다. Phagocytic activity와 반응산소증간물질의 생성 등이 20μg/ml 농도의 total saponin을 투여했을 때 모두 증가하였다. Reverse transcription polymerase chain reaction(RT-PCR)을 이용하여 백삼성분에 의해 발현이 증가하는 cytokine을 조사한 결과 TNF와 IL-1의 발현이 20μg/ml 농도에서 대조군보다 증가되었다.

## 감사의 글

이 논문은 1996년도 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의하여 연구되었으며 지원에 감사를 드립니다.

## 문 헌

1. 전기홍, 이무하, 김영봉 : 돼지고기와 닭고기 지방산화에 대한 인삼의 효과. *한국식품과학회지*, 24, 7(1992)
2. 백태홍, 홍정태, 홍순영 : 인삼 중의 항산화물질에 관한 연구. *한국식품과학회지*, 14, 130(1982)
3. 김상달, 노재호, 오훈일 : 고려인삼 갈면물질의 항산화 효과. *한국농화학회지*, 24, 161(1981)
4. 위재준, 박종대, 김만록, 이형주 : 인삼으로부터 페놀성 항산화 성분의 분리. *한국농화학회지*, 32, 44(1989)
5. 유성호, 문경호, 박무영 : 한약재로부터 L1210 세포생장 억제물질의 검색. *산업미생물학회지*, 10, 53(1982)
6. 최진호, 오성기 : 고려인삼의 노화의제작용에 관한 연구. *한국영양식량학회지*, 12, 323(1983)
7. 전홍기, 김선희, 이종근 : 인삼의 생리활성에 관한 연구. *산업미생물학회지*, 10, 101(1982)
8. 양희천, 이태규 : 인삼엽에서 추출한 crude saponin<sup>o</sup> 미생물의 생리에 미치는 영향. *산업미생물학회지*, 9, 123(1981)
9. 주현규, 강주훈, 차원섭 : 인삼추출액이 국균의 효소생산에 미치는 영향에 관한 연구. *산업미생물학회지*, 6, 9(1978)
10. Liu, J., Wang, S., Liu, H., Yang, L. and Nan, G. : Stimulatory effect of saponin from Panax ginseng on immune function of lymphocytes in the elderly. *Mech Aging Dev.*, 83, 43(1995)
11. Yun, Y. S., Jo, S. K., Moon, H. S., Kim, Y. J., Oh, Y. R. and Yun, T. K. : Effect of Red ginseng on natural killer cell activity in mice with lung adenoma induced by urethan and benzopyrene. Proceedings of the 4th international ginseng symposium. Korea Ginseng Res. Inst., Daejeon, Korea, p 75(1984)
12. Stuart, A. E., Haveshaw, J. A. and Davidson, A. E. : Phagocytosis *in vitro*. In "Handbook of experimental immunology" Weir, D. M.(ed.), 2nd ed.. Blackwell, p 24.4(1985)
13. Coligan, J. E., Kruisbeek, A. M., Margulies, D. H., Shevach, E. M. and Strober, W. : Current protocols in immunology. Wiley interscience, NIH, p 7 10.1(1986)
14. Ding, A., Nathan, C. F. and Stuehr, D. J. : Release of reactive nitrogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages : Comparison of activating cytokines and evidence for independent production. *J Immunol*, 141, 2407(1988)
15. Innis, M. A., Gelfand, D. H., Shinsky, J. J. and White, T. J. : PCR protocols. Academic Press, p.21(1990)
16. McPherson, M. J., Quirk, P. and Taylor, G. R. : PCR a practical approach. IRL Press, p.215(1991)
17. Roitt, I., Brostoff, J. and Male, D. : *Immunology*. 4th ed., Mosby(1996)
18. Babior, B. M. : The respiratory burst of phagocytes. *J. Clin. Invest.*, 73, 599(1984)
19. Klebanoff, S. J. : Phagocytic cells' products of oxygen metabolism. In "Inflammation: Basic principles and clinical correlates" Gallin, J. I., Goldstein, I. M. and Snyderman, R.(eds.), Raven, New York(1988)
20. Janeway, C. A., Travers, P. : *Immunology*; the immune system in health and disease. 2nd ed., Current Biology, Garland(1996)
21. Jiang, Y., Zhong, G. G. and Chen, L. : Influences of ginsenosides Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub> and Rb<sub>3</sub> on electric and contractile activities of normal and damaged cultured myocardial cells. *Chung Kuo Yao Li Hsueh Pao*, 12, 403(1992)
22. Sato, K., Mochizuki, M., Saiki, I. and Yoo, Y. C. : Inhibition of tumor angiogenesis and metastasis by a saponin of Panax ginseng, ginsenoside Rb<sub>2</sub>. *Biol. Pharm Bull.*, 17, 635(1994)
23. Yokozawa, T. and Cura, H. : Facilitation of protein biosynthesis by ginsenoside Rb<sub>2</sub> administration in diabetic rats. *J. Nat. Prod.*, 53, 1514(1990)
24. Arai, K. and Balkwill, F. R. : Cytokines, Coordinators of immune and inflammatory responses. *Annu. Rev. Biochem.*, 59, 783(1990)
25. Thompson, A. : *The Cytokine Handbook*. Academic Press, p.47, 257(1994)
26. Callard, R. and Gearing, A. : *The Cytokine facts book*. IRL Press, p.31(1994)

(1997년 9월 18일 접수)