

홍삼추출물이 마우스 복강 대식세포 Hydrogen Peroxide 생산에 미치는 영향

박 란 숙

숭의여자전문대학 식품영양과

Effects of Red Ginseng Extracts on Hydrogen Peroxide Production of Murine Peritoneal Macrophages

Ran-Sook Park

Department of Food and Nutrition, SoongEui Women's College,
8-3, Yejang-Dong, Chung-Ku 100-250, Seoul, Korea

Abstract

This experiment has conducted to evaluate whether single injection of red ginseng extract including 50% ethanol extract, crude saponin, and lipid soluble fraction can induce oxidative burst of mouse peritoneal macrophages with use of fluorescence spectrophotometer. To optimize conditions of fluorescent spectrophotometry, concentrations of DCFH-DA(2',7'-dichlorofluorescein diacetate) was 1.6 μ M and control oxidative burst by Zymosan A and PMA(phorbol myristate acetate) were 100 μ g, 250ng, respectively. Though *in vitro* macrophages failed to induce increment of H₂O₂ production, but 50% ethanol extract group induced significant enhancement of H₂O₂ production when zymosan A triggered oxidative burst. On the other hand, lipid soluble fraction enhanced significantly H₂O₂ production with single peritoneal injection *in vivo*. Both of 50% ethanol extract and crude saponin group decreased H₂O₂ production than that of control group. These findings consisted with the other reports which showed ginsenosides inhibited nitric oxide production and lipid soluble fraction activated colony stimulating factor(granulocyte-monocyte) activity in bone marrow stem cells. As is well known, lipid soluble fraction contains phenol compound, polyacetylene compound and alkaloids. Further study would unravel which component of it can induce H₂O₂ production of macrophages.

Key words : Red ginseng(*Panax ginseng*), H₂O₂ production, macrophages.

서 론

전통적으로 인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 물질대사 및 내분비계, 면역계, 신경계, 순환기계, 소화기계 등에 약리작용이 있다고 알려져 있으며, dammarane type 의 triterpene에 glucose, rhamnose, xylose, arabinose 등의 당류가 결합한 29 종의 사포닌(saponin, ginsenoside)이 주된 약리작용을 나타낸다고 밝혀졌다¹⁾. 인삼의 약리작용에 대한 구미인들의 관심이 고조되어 최근 미국에서는 인삼 판매액이 연간 3억 달러에 달하고 있지만 단순한 건

강식품이 아니라 천연 약재로서의 자리매김을 하기 위하여 인삼효능에 대한 자세한 기전을 확실히 밝힐 필요성이 대두되었다. 더욱이 뿌리와 뿌리 추출물의 saponin량이나 종류, 추출방법, 실험동물의 상태, 투여방법 등에 따라서 성적이 다르거나²⁾, 또는 재배인삼인가 야생인삼인가에 따라 가끔 상반된 결과가 보고되기도 하였다³⁾. 특히 면역계에 미치는 영향에 대하여는 과거에 유행하였던 adaptogen으로 작용할 것이라는 종합적이고 막연한 견해가 지배적이었다⁴⁾. 따라서 인삼의 각 성분이 면역계 전체 또는 세포매개성 면역의 T helper lymphocyte, 체액성 면역의 B

lymphocyte, 그리고 종양세포, 이물질, 세균, 바이러스 등을 탐식, 살해하는 대식세포, natural killer cell 등의 기능에 미치는 영향은 많은 연구가 진행되어야 할 부분이다.

1982년 Yeung 등⁴⁾은 인삼에서 추출한 total saponin이 마우스의 cytotoxic T cell 생산, natural killer cell 활성화, 체액성 면역의 증가를 억제하는 immunosuppression 효과가 있었으며 이는 saponin의 steroid 유사구조와 연관이 있을 것이라고 보고하였지만, 이외는 달리 인삼뿌리 추출물과 함께 PWM (pokeweed mitogen)을 투여하여 쥐소의 말초혈림프구의 증식을 유발하였다는 연구도 있었다⁵⁾. 그러나 ginsenoside Rg₁ 과 Rb₁은 복강내 resting 대식세포의 nitric oxide 생산에 아무런 영향을 미치지 못한 반면에, IFN-gamma로 미리 자극한 복강 대식세포에 Rg₁을 처치하면 nitric oxide(NO) 생산이 증가되었고 Rb₁처치는 효과가 없었다는 보고가 있어 ginsenoside의 종류에 따라 대식세포에 미치는 영향이 다른 점을 알 수 있다⁶⁾. 보고자에 따라서는 Rh₁, Rh₂는 투여 용량에 비례하여 NO 생산의 감소를 유발한다고 주장하였다⁷⁾.

인삼추출물을 마우스에 장기 복용시키면 혈청 gamma globulin이 감소됨이 알려졌고, 면역글로불린인 IgG1이 유의하게 감소된 점으로 볼 때 인삼이 체액성 면역을 감소시킴을 알 수 있다⁸⁾. 최근 Song 등^{9,10)}이 세포매개성 면역을 주도하는 흉선이 선천적으로 결핍된 athymic rat(무흉선쥐)에 유발한 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*) 폐렴에 인삼 추출물을 투여한 결과 혈청 IgG는 감소되지만 IgG2 isotype이 증가되었으며, 폐장의 병리소견이 호전되고 녹농균의 감소가 유의하게 관찰되었음을 보고하였다. 선천적으로 흉선이 매개하는 세포매개성 면역이 결핍된 상태에서 인삼 추출물이 innate immunity(선천성 면역)를 증가시킴이 밝혀진 것은 처음이며, 이는 인삼 투여가 면역글로불린의 생산과 관련된 체액성 면역에 직접적으로 작용하기 보다는 CD 4 lymphocyte 및 interferon-gamma 같은 lymphokine에 의해 대식세포를 활성화시키는 Th1 response 즉 대식세포를 포함한 innate immunity의 세포에 주로 작용함을 규명한 것이다. 인삼 추출물이 체액성 면역보다는 세포매개성 면역에 작용하고, 그 중에서도 effector cell인 대식세포, natural killer cell 등에 주로 작용한다는 것이 알려졌기 때문에, 과연 인삼 추출물인 사포닌, 지질 추출물, 에탄올 추출물 중 어떤 성분의 인삼 추출물이 대식세포를 활성화시키는 지 규명하는 것

은 인삼이 면역계에 미치는 영향을 규명하는데 필수적이다.

이제까지의 인삼 추출물이 면역계에 미치는 영향은 무독성, 비특이적, 정상화 작용으로 설명하는 adaptogen설¹¹⁾의 영향을 받아 장기간 경구 투여후의 연구 결과를 분석하는 것이 통례였으나 인삼 추출물이 대식세포의 기능을 활성화시킨다면 대용량으로 1회만 투여하여도 대식세포의 oxidative burst 기능에 변화를 유도할 가능성이 있다. 본 연구에서는 종래의 동물시험이 장기간 투여와 이에 따른 세포의 반응에 중점을 두고 연구하여 왔던 방법을 탈피하여 홍삼의 50% ethanol extract, crude saponin, lipid soluble fraction을 대량으로 1회 투여하였을 때 resting 대식세포의 세균살해능 지표인 oxidative burst의 hydrogen peroxide 생산에 미치는 영향을 *in vivo*와 *in vitro*에서 연구하였다.

재료 및 방법

1. 복강대식세포의 oxidative burst 측정

1) PMA와 Zymosan A에 의한 oxidative burst 유발

대식세포는 세균 등의 이물질을 탐식하거나 세포막에 자극을 받으면 superoxide anion(O₂⁻)이 hydrogen peroxide(H₂O₂)로 변화하는 oxidative burst를 일으켜 세균이나 암세포를 살해한다. 본 실험에서는 양성 대조군으로 사용하기 위하여 oxidative burst를 촉진하는 물질인 PMA(phorbol myristate acetate, Sigma Co)와 zymosan A(Sigma Co)를 이용하였다. Oxidative burst를 일으키는 물질중 가장 잘 알려진 이 두가지 agent의 적정농도를 구하기 위하여 zymosan A 100μg, 200μg/well과 PMA 250ng, 500ng/well을 사용하였다. DCFH-DA(2',7'-dichlorofluorescein diacetate, Molecular Probes, Inc.)의 적정농도를 찾아내기 위하여 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2μM을 사용하였다. DCFH-DA는 산화에 의하여 형광을 나타내는 DCFH로 전환되기 때문에 stock solution은 5ml 병에 넣어 광선을 차단한 다음 질소로 충전하고, crimper를 이용하여 알미늄캡으로 밀봉한 후 사용할 때마다 주사기를 이용하여 채취하였다.

2) Hydrogen peroxide 측정

대식세포의 oxidative burst를 모니터링하기 위하여

비형광물질인 DCFH-DA가 세포내외의 oxidative radical에 의하여 고도의 형광물질인 2',7'-dichlorofluorescein (DCF)로 변하는 형광의 양을 측정하였다. 24 well plate의 첫줄 3well은 PBS만 넣어 blank로 잡고 둘째줄과 셋째줄은 250 ng/well의 PMA와 100 g/well의 zymosan A로 처리한 후 blank를 제외한 전체 well에 0.5 μ l의 DCFH-DA를 처리하여 빛을 차단한 상태로 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ incubator에서 5시간 동안 배양하였다. Cytofluor 2300 (multiwell fluorescence plate readers, Millipore)를 이용해 excitation 485 nm와 emission 530 nm로 relative fluorescence unit(RFU, 상대적형광도)를 측정하였다¹³⁾.

2. In vitro study

1) 복강대식세포의 분리와 홍삼 추출물 용량

전날 금식시킨 Balb/c 마우스 50마리를 질소가스로 질식사시킨 후 복강에 15 ml 내외의 cold heparinized(10 Units/ml) PBS를 주사하여 잘 흔들어서 복강을 세척하여 세포들을 모았다. 복강내 대식세포를 2 \times 10⁶ cells/ml를 0.1 ml씩 13 m lux coverslip(Miles Scientific, Naperville, IL)에 부착시키고 24 well culture plate에 넣어 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ incubator내에서 배양하였다. 2시간후 37 $^{\circ}$ C의 PBS로 비부착세포를 제거하고 0.4% trypan blue 염색으로 세포생존율을 산정하였으며 생존율은 98% 이상이었다. 25 mM HEPES Buffer, 2 mM L-glutamine, 100 μ g/ml gentamicin이 첨가된 10% fetal calf serum(Hyclone Laboratories, Logan, UT)로 배양하였다.

본 실험에 사용한 홍삼 추출물은 홍삼(6년근) 100 gm중 알코올과 물에 녹는 거의 모든 가용성 부분을 포함하고 있는 50% ethanol extract, 약 20여종의 saponin이 포함된 crude saponin, 그리고 미량성분이 포함되어 있는 lipid soluble fraction 등 3가지였다. 홍삼 추출물은 각각 10 ng, 100 ng, 1 μ g, 10 μ g/well로 처리하였다(홍삼 추출물은 한국인삼연구조합 연구소로부터 제공받았음).

2) 실험군

추출물을 10 ng, 100 ng, 1 μ g, 10 μ g/well로 각각 3개의 well에 투여한 홍삼의 50% ethanol군, crude saponin군, lipid soluble fraction군과 세포 배양액만 처리한 대조군으로 나누었다.

3. In vivo 복강내 홍삼 추출물 주사

1) 실험동물과 복강내 주사량의 결정

실험동물은 SPF(specific pathogen free) 상태에서 사육한 체중 25 gm 내외의 Balb/c 마우스 암컷을 실험 전날 금식시킨 다음 사용하였다. 홍삼의 50% ethanol extract, crude saponin, lipid soluble fraction을 각각 무수에탄올 1 ml에 1 gm 씩 용해한 것을 stock solution으로 하고, 마우스 복강내에 주사할 때는 PBS (phosphate buffered saline, Sigma, St. Louis, MO)에 희석하여 주사하였다.

홍삼추출물의 적절한 농도를 결정하기 위한 예비실험에서 100 mg, 25 mg, 2.5 mg, 1 mg/mouse를 각 농도별로 5 마리의 마우스에 주사한 다음 1~24시간동안 관찰하였다. 각 분획 100 mg을 복강내 주사한 경우 1~2시간내에 Cheyne-Stokes 호흡과 청색증을 보이며 5마리 모두 사망하였고, 25 mg을 복강내 주사한 경우는 4~24시간내에 모두 사망하였다. 2.5 mg/mouse, 1 mg/mouse를 주사한 군에서는 모두 생존하였다. 따라서 본 실험에서는 각 분획 2.5 mg을 복강내 주사하였다. 이는 100 mg/kg에 해당하는 용량으로 주충노 등¹¹⁾이 경구투여한 5 mg/kg, Lee 등¹²⁾이 경구투여한 25 mg/kg, Song 등⁹⁾이 피하주사한 25 mg/kg에 비하면 4~20배 높은 농도이다.

2) 실험군

실험군은 홍삼의 50% ethanol extract군, crude saponin군, lipid soluble fraction군, 각군 2.5 mg/마리를 10마리씩 주사하였다. 홍삼 추출물을 투여하지 않은 마우스 10마리를 대조군으로 사용하였다.

4. 통계처리

실험 결과는 3회의 실험에서 측정된 평균치와 표준편차로 표기하였으며 PMA와 zymosan A에 의한 oxidative burst는 선형회귀분석과 Student t-test 그리고 각 홍삼의 추출물 간의 유의성 검정은 one way ANOVA test 및 Student-Newman-Keuls 방법을 사용하였다. 통계 및 그래프 작성은 SigmaPlot과 SigmaStat(Jandel, San Rafael, CA, USA)를 사용하였다.

결과 및 고찰

1. DCFH-DA의 적정농도 곡선

Oxidative burst 측정의 최적상태를 찾기 위하여 24 well culture plate에 복강대식세포의 수를 2×10^5 cell / coverslip / well로 배양한 다음 DCFH-DA의 농도를 0.1~3.2 μ M까지 2의 지수로 증가시켰을 때, 상대적 형광도(RFU)가 선형회귀로 증가함을 관찰하였으며, 결정계수 $r^2=0.9399$ 로 유의하게 증가되었다(Fig. 1). 이 때 oxidative burst 유도는 zymosan A 100 μ g을 사용하였으며, 이후 실험에서의 DCFH-DA 농도는 1.6 μ M로 사용하였다.

대식세포 및 백혈구의 미생물 살해능력을 나타내는 방법 중에서 oxidative burst의 측정은 H₂O₂, superoxide anion(O₂⁻), singlet oxygen(¹O₂) 등의 반응성 산소 유도기(reactive oxygen derivative)의 생성을 측정할 수 있다. 이 중에서 hydrogen peroxide는 세포내·외에서 모두 독성을 나타내는 기능을 한다. H₂O₂의 측정은 분광광도계(spectrophotometer)를 이용하는 방법이 보고되었지만¹⁴⁾, 최근에는 재현성이 높고 대량의 샘플을 단시간내에 측정할 수 있는 간편한 형광분광도법(fluorescent spectrophotometry)을 사용하는 경향이 높다¹³⁾.

2. Zymosan A와 PMA 농도에 따른 hydrogen peroxide 생산

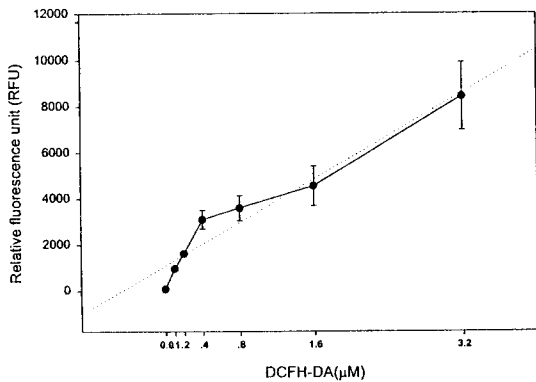


Fig. 1. Oxidative burst(H₂O₂ production) showed a linear regression according to concentration of DCFH-DA(μM) from 0.01 to 3.2μM. Oxidative burst was expressed in relative fluorescence unit (RFU) *in vitro*. All experiments were triplicated with 2×10^5 macrophages per well. Data indicates mean \pm S.D., $r^2 = 0.94$.

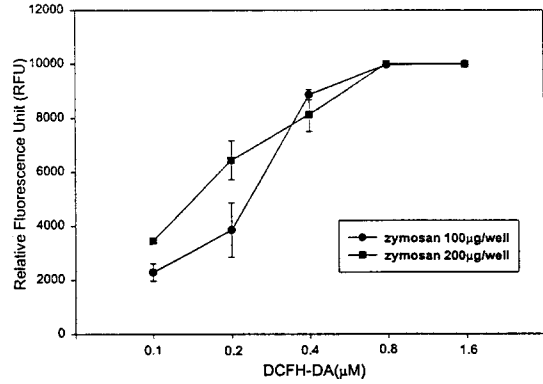


Fig. 2. Two concentrations of Zymosan A (100 μ g, 200 μ g) triggered oxidative burst(H₂O₂ production) in mouse peritoneal macrophages *in vitro*.

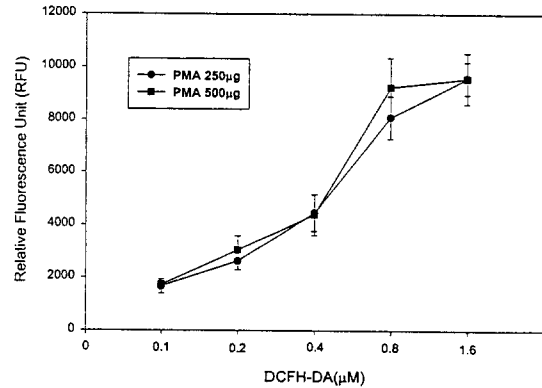


Fig. 3. Effect of PMA concentrations, 250 μ g, 500 μ g on trigger of H₂O₂ production *in vitro* cultured mouse peritoneal macrophages.

대식세포의 oxidative burst를 유발하는 물질중 zymosan A, PMA는 가장 널리 사용되고 있으며, hydrogen peroxide를 측정하는데 적합한 농도를 구하기 위하여 대식세포 농도를 2×10^5 cells / well로, DCFH-DA 농도를 3.2 μ M로 고정하고 zymosan A의 농도를 100 μ g, 200 μ g으로 하였을 때 비슷한 양상을 보였기 때문에 이후 실험에서는 100 μ g을 사용하였다(Fig. 2). PMA는 250 μ g, 500 μ g를 실험한 결과 양쪽 모두 선형회귀를 보였으며 차후 시험에서는 250 μ g을 사용하였다(Fig. 3).

3. 홍삼추출물이 *in vitro* 대식세포의 oxidative burst에 미치는 영향

SPF(specific pathogen free) 상태의 마우스 복강에서 분리한 대식세포를 24 well culture plate

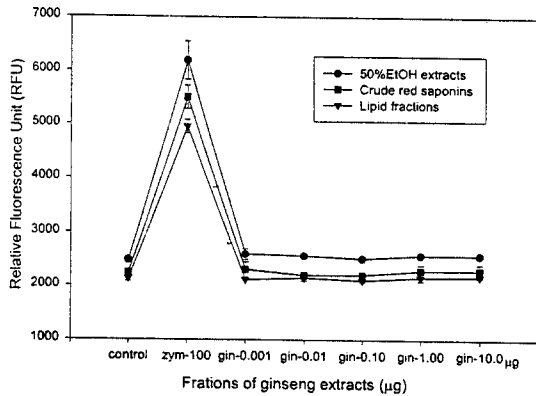


Fig. 4. Comparison of H_2O_2 production among 50% ethanol extracts, crude saponins and lipid soluble extracts of red ginseng showed no differences in macrophages *in vitro*. Zymosan $100\mu g$ triggered H_2O_2 production among ginseng extracts. The concentrations of ginseng extracts were used 1ng, 10ng, 100ng, $1\mu g$ and $10\mu g$ per well respectively.

에서 배양한 후 zymosan A $100\mu g$ 로 oxidative burst를 유발하면 ethanol extract를 처치한 군에서 가장 높은 hydrogen peroxide를 생산하였고, ethanol extract, crude saponin, lipid soluble fraction 사이에 유의한 차이($P < 0.05$)가 관찰되었다 (Fig. 4). 그러나 홍삼 추출물인 50% ethanol extract, crude saponin, lipid soluble fraction를 각각 1 ng에서부터 $10\mu g$ 까지의 농도로 처치한 결과 3 가지 홍삼 추출물 단독으로는 oxidative burst를 유도할 수 없었다 (Fig. 4).

이는 *in vitro*에서는 홍삼 추출물이 resting 대식세포의 hydrogen peroxide 생산을 증가시킬 수 없음을 뜻하는 것이며, Fan 등⁶⁾의 resting macrophage에서 ginsenoside Rg1과 Rb1으로 nitric oxide의 생산을 유도할 수 없었다는 실험보고와 일치한다. Park 등⁷⁾ 역시 ginsenoside Rh1과 Rh2가 nitric oxide의 생성을 억제한다고 주장하였다.

4. 홍삼추출물이 *in vivo* 대식세포의 oxidative burst에 미치는 영향

마우스 복강내에 홍삼 추출물을 2.5 mg /mouse 로 1회 주사한 후 24시간에 복강대식세포를 분리하여 hydrogen peroxide를 측정할 결과 lipid soluble fraction에서 유일하게 oxidative burst를 유도하였으며, ethanol extract, crude saponin군 및 대조군에 비하여 약 1.4~2.4 배의 유의한 증가를 보였다

Table 1. *In vivo* comparison of hydrogen peroxide production among red ginseng extracts exhibited significant enhancement of hydrogen peroxide in lipid soluble fraction only. Both of 50% ethanol extract and crude saponin group revealed significant inhibition of hydrogen peroxide than that of control group. 10 mice injected single dose of 2.5 mg /mice of each extracts intraperitoneally. One day after the injection, 2×10^5 peritoneal macrophages were plated in 24 wells and oxidative burst assayed with DCFH-DA. Experiments were triplicated

Group	Hydrogen peroxide level mean \pm S.D.
Control	2,503 \pm 115
50% ethanol extract	1,473 \pm 100**
Crude saponins	1,457 \pm 150**
Lipid soluble extract	3,598 \pm 447*

One way analysis of variance (ANOVA) was applied with Student-Newman-Keuls method. Hydrogen peroxide level expressed in relative fluorescence unit (RFU). * $P < 0.01$, ** $P < 0.05$.

($P < 0.01$). 2.5 mg /mouse는 예비실험에서 준치사용량에 해당되며, 마우스 체중을 환산하면 100 mg /kg에 해당하는 고용량임은 재료 및 방법에서 밝힌 바 있다. 그러나 50% ethanol extract와 crude saponin을 처치했던 마우스에서는 대조군보다 더 낮은 hydrogen peroxide ($P < 0.05$)를 생산하였다 (Table 1). 이 성적은 Lee 등¹²⁾이 인삼의 water extract를 랫트에 처치하면 항산화효과가 있다는 보고와 일치하였다.

김동집 등¹⁵⁾이 인삼의 saponin, panaxidiol, panaxitriol 등 ginsenoside 성분은 조혈모세포의 CF-UGM assay system의 colony 자극 효과가 없었지만, 반면에 비사포닌 성분인 lipid soluble fraction은 유의한 활성 증가를 유도하였다는 보고는 본 실험에서 ginsenoside보다는 lipid soluble fraction이 대식세포의 hydrogen peroxide의 유의한 증가를 유도한 결과와 잘 일치하고 있다. 잘 아는 바와 같이 홍삼 뿌리의 1%인 lipid soluble extract에는 phenol계 화합물, polyacetylene계 성분, 그리고 미량 성분 등 다양한 성분이 포함되어 있으며¹⁵⁾, 이 중 어느 성분이 생체내에서 oxidative burst를 유발하는지 향후 연구가 필요하다.

요 약

홍삼의 추출물인 50% ethanol extract, crude saponin, 그리고 lipid soluble fraction이 마우스 대식세포의 oxidative burst를 유발할 수 있는지 여부를 알아보고자 *in vitro*와 *in vivo*에 각각의 추출물을 처치하고 hydrogen peroxide 생산을 DCFH-DA를 이용한 형광분광광도법으로 측정하였다. 형광분광법에 의한 hydrogen peroxide의 측정을 최적화하기 위한 DCFH-DA의 농도는 3.2 μ M이었고, oxidative burst를 유도하기 위한 zymosan A, PMA의 최적 농도는 각각 100 μ g, 250ng를 사용하였다. *In vitro*의 경우, 홍삼의 3가지 추출물은 모두 oxidative burst를 유발하지 못하였지만, zymosan A로 유발한 경우에는 50% ethanol extract에서 가장 높은 hydrogen peroxide를 생산하였다.

In vivo 실험에서는, lipid soluble extract에서만 유의하게 증가한(P<0.01) oxidative burst를 유발하였고, ginsenoside(saponin)가 어느 정도 포함되어 있는 50% ethanol extract와 crude saponin은 대조군에 비하여 유의하게 낮은(P<0.05) hydrogen peroxide를 생산하였다. 이는 ginsenoside가 마우스의 nitric oxide 생산을 억제한다는 다른 연구자들의 보고와 일치하는 결과이다. Oxidative burst를 유발한 lipid soluble extract에는 phenol계 화합물, polyacetylene계 화합물, 미량성분 등이 함유되어 있으므로 차후 연구를 통하여 과연 어느 성분이 hydrogen peroxide를 증가시키는지 규명하는 것이 필요하다.

감사의 말

이 논문은 숭의 여자전문대학 학술연구비의 지원에 의하여 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 고지훈, 김영숙, 김혜영, 나기정, 도재호, 박종대, 박진규, 박화진, 백낙인, 이성식, 이종화, 이형욱, 정기택 : 고려인삼(한국인삼연초연구원 발행), 천일인쇄사, 대전시, p. 186-202 (1993).
2. Gillis, C. N. : Panax ginseng pharmacology : a nitric oxide link?, *Biochem. Pharmacol.*, **54**, 1-8 (1997).
3. Mizuno, M., Yamada, J., Terai, H., Kozukue, N.,

- Lee, Y. S. and Tsuchida, H. : Differences in immunomodulating effects between wild and cultured Panax ginseng, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **200**, 1672-1678 (1994).
4. Yeung, H. W., Cheung, K. and Leung, K. N. : Immunopharmacology of Chinese medicine 1, ginseng induced immunosuppression in virus-infected mice, *Am. J. Chin. Med.*, **10**, 44-54 (1982).
5. Concha, C., Hu, S. and Holmberg, O. : The proliferative responses of cow stripping milk and blood lymphocytes to pokeweed mitogen and ginseng *in vitro*, *Vet. Res.*, **27**, 107-115 (1996).
6. Fan, Z. H., Isobe, K., Kiuchi, K. and Nakashima, I. : Enhancement of nitric oxide production from activated macrophages by a purified form of ginsenoside(Rg1), *Am. J. Chin. Med.*, **23**, 279-287 (1995).
7. Park, Y. C., Lee, C. H., Kang, H. S., Kim, K. W., Chung, H. T. and Kim, H. D. : Ginsenoside-Rh1 and Rh2 inhibit the induction of nitric oxide synthesis in murine peritoneal macrophages, *Biochem. Mol. Biol. Int.*, **40**, 751-757 (1996).
8. Kim, Y. W., Song, D. K., Kim, W. H., Lee, K. M., Wie, M. B., Kim, Y. H., Kee, S. H. and Cho, M. K. : Long-term oral administration of ginseng extract decreases serum gamma-globulin and IgG1 isotype in mice, *J. Ethnopharmacol.* **58**, 55-58 (1997).
9. Song, Z., Johansen, H. K., Faber, V., Moser, C., Kharazmi, A., Rygaard, J. and Hoiby, N. : Ginseng treatment reduces bacterial load and lung pathology in chronic *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia in rats, *Antimicrob. Agents. Chemother.* **41**, 961-964 (1997).
10. Song, Z., Johansen, H. K., Faber, V. and Hoiby, N. : Ginseng treatment enhances bacterial clearance and decreases lung pathology in athymic rats with chronic *P. aeruginosa* pneumonia, *Acta. Pathol. Microbiol. Immunol. Scan.* **105**, 438-444 (1997).
11. 주충노, 윤수희, 이향숙, 김용덕, 이희봉, 구자현 : 인삼 saponin 분획의 고혈당 강하작용에 관한 연구(II), *고려인삼학회지*, **16**, 198-209 (1992).
12. Lee, D. W., Sohn, H. B., Lim, H. B., Lee, Y. G., Aprikian, A. G. and Aprikian, G. V. : Antioxidant action of Ginseng : An hypothesis, *Korean. J. Ginseng. Sci.* **19**, 31-38 (1995).
13. Wan, C. P., Myung E. and Lau, B. H. S. : An automated micro-fluorometric assay for monitoring oxidative burst activity of phagocytes, *J. Immunol. Meth.* **159**, 131-138 (1993).
14. Pick, E. and Keisari, Y. : Simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture, *J. Immunol. Meth.* **38**, 161-170 (1980).

15. 김동집, 홍영선, 최상욱, 한지화, 진종률, 강진형, 최강주, 남기열, 조현찬, 김춘추, 김원일 : 骨髓培養結果 造血母細胞에 미치는 高麗人蔘의 效能, 大韓血液學雜誌, 20, 71-78 (1985).
16. 고지훈, 김영숙, 김혜영, 나기정, 도재호, 박종대, 박진규, 박화진, 백남인, 이성식, 이종화, 이형욱, 정기택 : 고려인삼(한국인삼연조연구원 발행), 천일인쇄사, 대전시, p. 63-84 (1993).

(1998년 1월 24일 접수)