

## 더덕으로부터 면역세포 활성 성분의 분리

서 정 숙 · 은 재 순\*

전주기전여자대학 식품영양과, 우석대학교 약학대학\*

### Isolation of Active Components on Immunocytes from *Codonopsis Lanceolatae*

Suh, Jeong Sook · Eun, Jae Soon\*

Department of Food and Nutrition, Chonju Kijeon Women's College, Chonju 560-701, Korea  
College of Pharmacy,\* Woosuk University, Samrye 565-701, Korea

#### ABSTRACT

The purpose of this research was to isolate an active component on immunocytes from 70% MeOH extract of *Codonopsis lanceolatae* Radix(CLE). CLE was fractionated successively with hexane, methylene chloride, n-butyl alcohol and water, and then the water fraction was separated with molecularporous membrane tubing(m.w. 3,500). Each fraction(50mg/kg) was administered *p.o.* once a day for 7 days in BALB/c mice respectively. None of these fractions affected the apoptosis and mitochondrial transmembrane potential in thymocyte. Hexane and methylene chloride fractions decreased CD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup> single-positive cells, and the water fraction enhanced CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> single-positive cells in thymocyte. The proliferation of thymocytes was decreased by the fraction hexane, but was enhanced by the water fraction. Hexane, methylene chloride and butyl alcohol fractions suppressed the production of nitric oxide, which was not affected by the water fraction. Hexane and butyl alcohol fraction suppressed the phagocytic activity, but water fraction enhanced it. The components(m.w. 3,500 above) separated from the water fraction enhanced the proliferation of thymocyte, the population of CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> single-positive cells, and phagocytic activity in macrophage. These results suggest that the stimulative components of proliferation, T<sub>H</sub> population and phagocytic activity is in the water fraction, and the molecular weight is 3,500 above. (*Korean J Nutrition* 31(6) : 1076~1081, 1998)

KEY WORDS : *Codonopsis lanceolatae* radix · thymocyte · macrophage.

#### 서 론

더덕(*Codonopsis lanceolata* Bentham et Hooker)은 도라지과(Campanulaceae)에 속하는 다년생 만초로서 오래 전부터 민간에서 맛과 향이 독특하여 식용으로 사용되어 왔고, 한방에서는 병후회복, 산후회복, 유즙분비촉진, 해소, 거담 및 항염작용이 있는 것으로 알려져 약용으로도 사용되어 왔다<sup>1)</sup>. 더덕에 함유된 성분으로는 sterol, triterpenoid<sup>2)3)</sup>, cycloartenol<sup>4)</sup>, N-fo-

채택일 : 1998년 6월 26일

rmylharman, 1-carbomethoxy-β-carboline, perlo-lyrine, norharman<sup>5)</sup> 및 휘발성 향기성분<sup>6)7)</sup>들이 보고되었다.

본 연구는 더덕 물 추출물이 thymocytes 중 T<sub>H</sub> 세포의 population을 증가시키고, 사람 PMN 세포의 phagocytic activity를 증가시켜 면역능을 증강시킬 수 있음을 이미 보고하였다<sup>8)</sup>. 따라서 본 실험에서는 면역능을 증강시키는 성분을 분리하고자 더덕을 70% MeOH로 추출한 후, hexane, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, n-BuOH 및 물분획으로 분획하여 thymocyte 및 복강 macrophage에 미치는 영향을 관찰하였으며, 물분획에 T<sub>H</sub> 세

포를 활성화하는 성분 및 복강 macrophage를 활성화하는 성분이 함유되어 있어, 이를 molecularporous membrane tubing(m.w. 3,500)으로 분자량 3,500 이상과 분자량 3,500 이하로 분리하여 면역세포에 대한 활성을 측정하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재 료

본 실험에 사용한 더덕은 1997년 6월 전북 진안군에서 재배하고 있는 것을 구입하여 4,000g를 물로 깨끗이 씻은 후 손으로 잘게 찢어, 70% MeOH로 실온에서 3일간 교반 추출한 다음, 여과하고 여액을 rotary evaporator로 40°C에서 농축하였다. 농축액을 hexane(0.07g), methylene chloride(0.64g), n-BuOH(5.29g) 및 물(121.3g)로 분획하여, 각 분획을 동결건조 하여 실험에 사용하였다. 물 분획 1g을 molecularporous membrane tubing으로 분자량 3,500 이상과 이하로 분리한 후 농축한 뒤, 동결건조 하여 각각 0.45g 및 0.33g를 얻어 실험에 사용하였다.

실험동물은 BALB/c계 수컷 마우스(18±2g)를 대한 실험동물에서 구입하여, 온도 20±2°C, 습도 55±3%, light/dark 12시간의 사육 조건에서 일주일 이상 적응시킨 후 사용하였고 사육중 물과 사료를 자유롭게 섭취케 하였다.

### 2. 시약 및 기구

실험에 사용한 시약은 Dulbecco's modified Eagle's medium(DME), penicillin-streptomycin, Dulbecco's phosphate buffered saline(DPBS-A), 3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazoliumbromide(MTT), concanavalin A(Con A.), lipopolysaccharide(LPS, 026 : B6), interferon  $\gamma$ ( $\gamma$ -IFN, Hu  $\gamma$ -IFN), sulfanilamide, N-Naphthylethylenediamine 2HCl, zymosan, lucigenin는 Sigma Co., RPMI 1640, fetal bovine serum(FBS), trypsin, thioglycollate는 Difco Co., PE-CD4 monoclonal antibody, FITC-CD8 monoclonal antibody는 Molecular probes Co., molecularporous membrane tubing(m.w. 3,500)는 Spectra/Por Co.를 사용하였으며, 기타 시약은 세포 배양용 및 1급 시약을 사용하였다. 사용 기구는 culture flask(Nunc), multi-well plate(96-well, 24-well, Costar), microplate reader(Dynatech MR5000), CO<sub>2</sub> incubator(Vision scientific Co.), luminometer(Berthold 96

LP), flow cytometer(Coulter EPICS-XL), inverted microscope(Nikon Co.), freeze dry apparatus(Labconco)등을 사용하였다.

### 3. Thymocyte의 apoptosis 측정

마우스 5마리를 1군으로 하여 더덕 각 분획 50mg/kg을 마우스에 1일 1회씩 7일간 경구투여 한 후, 8일째 마우스의 흉선을 적출 하여 DPBS-A를 넣은 petri dish에서 잘게 분쇄하고 멸균된 stainless mesh로 여과하여 2회 세척한 다음 1,500 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 얻어진 세포를 DPBS-A에 재부유시켜 3회 반복 세척한 후, 분리한 thymocytes의 생존율 및 총세포수를 0.2% trypan blue exclusion법으로 hemocytometer로 측정하였다. Thymocytes에 PI buffer(0.1% Na-Citrate+0.2% Triton X-100)에 용해시킨 propidium iodide(10 $\mu$ g/ml) 20 $\mu$ l를 넣어 빙냉하에서 30분간 염색한 후, flow cytometer로 sub-G1 peak를 관찰하였다<sup>9)</sup>.

### 4. Thymocyte의 mitochondrial transmembrane potential 측정

실험 3과 동일한 방법으로 thymocyte를 분리한 후, mitochondrial transmembrane potential을 측정하였다. Thymocyte 현탁액을 조제해서 1 $\times$ 10<sup>6</sup> cells/well이 되도록 세포수를 조정된 후 3,3'-dihexylo-xa-carbocyanine iodide(DiOC<sub>6</sub>)를 최종 농도가 40 nM이 되도록 PBS에 희석해서 염색하고 37°C에서 15분간 반응시킨 다음 flow cytometer(excitation : 488nm ; emission : 525nm)로서 측정하였으며 이때 negative control로는 uncoupling agent로서 carbonyl cyanide m-chlorophenylhydrázone(mClCCP, 50 $\mu$ M)를 가하여 측정하였다<sup>10)</sup>.

### 5. Thymocyte의 sub-population 측정

실험 3과 동일한 방법으로 thymocyte를 분리한 후, eppendorf tube에 1 $\times$ 10<sup>6</sup> cells를 넣고 형광시약인 phycoerythrin(PE) 및 fluorescein isothiocyanate(FITC)로 conjugate 시킨 (PE) $\alpha$ -CD4, (FITC) $\alpha$ -CD8 monoclonal antibody로 이중염색(1 : 160 dilution)하여 flow cytometer(excitation 488nm, emission FITC 525nm, PE 575nm)로 sub-population을 측정하였다<sup>11)</sup>.

### 6. Thymocyte의 proliferation 측정

실험 3과 동일한 방법으로 thymocyte를 분리한 후, 세포증식율을 MTT법으로 측정하였다. 본 실험에 사용한 MTT법은 Mosmann<sup>12)</sup>이 개발하여 Kotnik등<sup>13)</sup>이

변형시킨 방법으로, 흉선세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96-well plate에  $1.2 \times 10^6$  cells/ml 농도로 접종하여 Con A 5 $\mu$ g/ml를 첨가한 후 37°C의 CO<sub>2</sub> incubator에서 48시간 배양한 다음, 배양 종료 4시간 전에 MTT시약을 가하였다. 배양 종료시 0.1N HCl에 용해시킨 10% SDS 100 $\mu$ l를 각 well에 첨가하고 차광 상태에서 18시간 더 배양한 후 발색된 각 well의 흡광도를 microplate-reader로 570nm에서 측정하여 대조군의 흡광도에 대한 실험군의 흡광도를 백분율로 환산하여 세포증식능을 계산하였다.

### 7. 복강 macrophage의 nitric oxide 측정

더덕 각 용매분획 50mg/kg을 1일 1회씩 7일간 경구 투여 하면서, 4일째 3% thioglycollate 2ml를 복강에 투여하였다. 8일째 마우스를 경추탈골하여 도살시킨 후, 복강에 cold PBS 10ml를 주입하여 복강세포를 수집하고, 4°C에서 1,300rpm으로 10분간 원심분리하여 RPMI 배지로 2회 세척한 후, 직경 120mm petri dish에 분주하여 2시간 후에 부착되지 않은 세포를 제거하였다. 부착한 macrophage를 cell scraper로 모아 well당  $10^6$  cells을 24 well plate에 분주하였다. 각 well에 LPS 10 $\mu$ g/ml와  $\gamma$ -IFN 25 units/ml를 첨가하고 24시간 후에 생성된 nitric oxide(NO)양을 Griess법<sup>14)</sup>으로 측정하였다. 배지 100 $\mu$ l와 Griess reagent(1% sulfanilamide+0.2% N-Naphthylethylenediamine 2HCl+2.5% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) 100 $\mu$ l를 혼합하여 96 well plate에 넣고 570nm에서 microplate reader로 흡광도를 측정하여 미리 작성한 NaNO<sub>2</sub>의 검량선에 의해 NO 양을 측정하였다.

### 8. 복강 macrophage의 phagocytic activity 측정

실험 7과 동일한 방법으로 macrophage를 분리하여 최종 세포농도가  $2 \times 10^6$  cells/ml가 되도록 DME(without phenol red, 0.34g/L NaHCO<sub>3</sub>, 2.6g/L Hepes, pH 7.2)에 부유시켜, 측정용 microplate(white)의 각 well에 준비된 세포부유액 50 $\mu$ l와 lucigenin 용액 50 $\mu$ l를 넣고 37°C에서 15분간 전 처리한 후, zymosan 용액 30 $\mu$ l를 첨가하여 최종 volume이 200 $\mu$ l가 되도록 한 후, 5분 간격으로 60분 동안 chemiluminescence를 luminometer를 이용하여 37°C에서 측정하였다<sup>15)</sup>.

### 9. 통계처리

모든 실험 결과들은 Mean $\pm$ SE로 나타내었고 통계 처리는 student t-test를 실시하여  $p < 0.05$ 를 기준으로 유의성 여부를 판정하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 더덕 용매 분획이 thymocyte의 DNA fragmentation에 미치는 효과

대조군의 DNA fragmentation은  $15.6 \pm 1.1\%$  이었으며, 더덕 hexane분획을 투여한 군은  $17.0 \pm 1.5\%$ , CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>분획을 투여한 군은  $15.9 \pm 1.8\%$ , n-BuOH분획을 투여한 군은  $15.9 \pm 1.2\%$ , 물분획을 투여한 군은  $17.3 \pm 1.7\%$ 로 대조군과 별 차이가 없었다(Table 1). 이는 더덕이 thymocyte의 apoptosis를 유도하지 않음을 의미하는 것이다.

### 2. 더덕 용매 분획이 thymocyte의 mitochondrial transmembrane potential에 미치는 효과

대조군의 mitochondrial transmembrane potential은  $82.2 \pm 1.2\%$  이었으며, 더덕 hexane분획을 투여한 군은  $83.5 \pm 0.8\%$ , 더덕 methylene chloride분획을 투여한 군은  $82.5 \pm 1.2\%$ , 더덕 buthyl alcohol분획을 투여한 군은  $82.9 \pm 1.8\%$ , 더덕 물분획을 투여한 군은  $85.6 \pm 2.0\%$ 로 대조군과 별 차이가 없었다(Table 2). 세포가 apoptosis가 일어날 때는 mitochondrial transmembrane potential의 감소가 선행되는 것으로 알려져 있다<sup>16)</sup>. 실험결과 각 분획을 투여시 mitochondrial transmembrane potential의 변화가 없었다는 것은 이들 분획이 thymocyte의 apoptosis를 유도하고 있지 않음을 확인하여 주는 것이다.

**Table 1.** Effect of solvent fractions of CLE on DNA fragmentation of thymocyte in BALB/c mice

Groups	DNA fragmentation(%)
Control	$15.6 \pm 1.1$
Hexane fraction	$17.0 \pm 1.5$
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> fraction	$15.9 \pm 1.8$
n-BuOH fraction	$15.9 \pm 1.2$
Water fraction	$17.3 \pm 1.7$

The data represents the mean $\pm$ SE of 5 mice

**Table 2.** Effect of solvent fractions of CLE on the mitochondrial transmembrane potential of thymocyte in mice

Groups	Mitochondrial transmembrane potential(%)
Control	$82.2 \pm 1.2$
Hexane fraction	$83.5 \pm 0.8$
Methylene chloride fraction	$82.5 \pm 1.2$
Butyl alcohol fraction	$82.9 \pm 1.8$
Water fraction	$85.6 \pm 2.0$

The data represents the mean $\pm$ SE of 5 mice

**3. 더덕 용매 분획이 thymocyte의 sub-population에 미치는 효과**

대조군의 thymocytes중 CD4 positive cell인 helper T cell( $T_H$ )은  $11.6 \pm 0.7\%$ , 이었으며, 더덕 hexane분획을 투여한 군은  $10.8 \pm 0.8\%$ , 더덕 methylene chloride분획을 투여한 군은  $10.9 \pm 0.8\%$ , 더덕 buthyl alcohol분획을 투여한 군은  $9.5 \pm 0.9\%$ , 더덕 물분획을 투여한 군은  $15.6 \pm 1.5\%$ 로 물분획에서 대조군에 비해 thymocyte의 helper T cell( $T_H$ )의 population이 증가하였다. CD8 positive cell인 cytotoxic T cell ( $T_C$ )은 대조군에서  $3.7 \pm 0.5\%$  이었으며, 더덕 hexane분획을 투여한 군은  $1.6 \pm 0.2\%$ , 더덕 methylene chloride분획을 투여한 군은  $1.8 \pm 0.3\%$ , 더덕 buthyl alcohol분획을 투여한 군은  $2.2 \pm 0.5\%$ , 더덕 물분획을 투여한 군은  $4.2 \pm 0.5\%$ 로 더덕 hexane분획 및 methylene chloride분획에서 대조군에 비해 thymocyte의 cytotoxic T cell의 population이 감소하였다 (Table 3).  $CD4^+CD8^+$  세포는  $CD4^+CD8$  및  $CD4 CD8^+$  singlepositive 세포로 성숙되며, 마우스 흉선에서  $CD4^+CD8$  세포는 약 12%,  $CD4 CD8^+$  세포는 약 3%이며,  $CD4^+CD8$  세포인 helper T 세포는 T 및 B 세포의 증식 및 분화를 촉진하고 macrophage를 활성화시키며,  $CD4 CD8^+$  세포인 cytotoxic T 세포는 virus 및 tumor cell의 lysis를 촉진시키고 macrophage를 활성화하는 것으로 알려져 있다<sup>17)</sup>. 본 실험에서도 helper T 및 cytotoxic T 세포의 비율은 11.6 : 3.7로 비슷하였으며, 물 분획에서 helper T cell의 population이 증가되었다는 것은 이들 성분이 T 및 B 세포의 증식 및 분화를 촉진하고 macrophage를 활성화할 수 있음을 의미하는 것이다. 물 분획을 molecularporous membrane tubing으로 분자량 3,500 이상과 3,500 이하로 분리하여 마우스에 투여한 뒤 thymocyte의 population을 측정된 결과 3,500 이상에서 helper T cell의 population이 증가되었다(Table 4).

**Table 3.** Effect of solvent fractions of CLE on the sub-population of thymocyte in mice

Groups	Population(%) of thymocytes	
	$CD4^+CD8$	$CD4 CD8^+$
Control	$11.6 \pm 0.7$	$3.7 \pm 0.5$
Hexane fraction	$10.8 \pm 0.8$	$1.6 \pm 0.2^*$
Methylene chloride fraction	$10.9 \pm 0.7$	$1.8 \pm 0.3^*$
Butyl alcohol fraction	$9.5 \pm 0.9$	$2.2 \pm 0.5$
Water fraction	$15.6 \pm 1.5^*$	$4.2 \pm 0.5$

The data represents the mean  $\pm$  SE of 5 mice  
\*Significantly different from control group( $p < 0.05$ )

**Table 4.** Effect of water fraction of CLE separated with molecularporous membrane tubing(m.w. 3,500) on the subpopulation of thymocyte in mice

Groups	Population(%) of thymocytes	
	$CD4^+CD8$	$CD4 CD8^+$
Control	$11.8 \pm 0.8$	$3.4 \pm 0.3$
m.w. 3,500(above)	$14.8 \pm 0.2^*$	$1.6 \pm 0.2^*$
m.w. 3,500(below)	$10.8 \pm 0.8$	$2.8 \pm 0.3$

The data represents the mean  $\pm$  SE of 5 mice  
\*Significantly different from control group( $p < 0.05$ )

**4. 더덕 용매 분획이 thymocyte의 proliferation에 미치는 효과**

대조군의 In vitro 실험에서 흉선세포에 Con A를 처리한 대조군의 세포증식능을 100%로 하였을 때, Con A를 처리하지 않았을 때는  $86.9 \pm 2.1\%$ 로 대조군에 비해 세포증식능이 감소하였으며, 더덕 hexane분획을 투여한 군은 Con A를 처리하였을 때  $83.3 \pm 1.9\%$ , 더덕 methylene chloride분획을 투여한 군은  $94.3 \pm 1.5\%$ , 더덕 buthyl alcohol분획을 투여한 군은  $99.6 \pm 2.4\%$ , 더덕 물분획을 투여한 군은  $128.0 \pm 2.3\%$ 로 물분획에서 대조군에 비해 thymocyte의 proliferation이 증가하였다(Table 5). Thymocyte의 증식은 helper T 세포 등에서 분비되는 IL-2 및 IL-4와 같은 cytokine에 의해 촉진되는 것으로 알려져 있다<sup>18)</sup>. 본 실험 결과 3에서 물분획을 투여시 helper T 세포의 population이 증가되었다는 것은 이들 작용에 의해 thymocyte의 증식이 촉진된 것이 아닌가 추정되나 자세한 기전은 추후 연구되어야 할 것이다. 더덕 물분획에서 thymocyte의 증식이 증가되었기에 이를 molecularporous membrane tubing으로 분자량 3,500 이상과 3,500 이하로 분리하여 thymocyte의 증식을 측정된 결과 3,500 이상에서 thymocyte의 증식이 촉진되었다(Table 6).

**5. 더덕 용매 분획이 복강 macrophage의 nitric oxide 생성에 미치는 효과**

정상 마우스의 복강 macrophage에 LPS와  $\gamma$ -IFN

**Table 5.** Effect of solvent fractions of CLE on the proliferation of thymocyte in mice

Groups	Cell proliferation(%)
Control	$100 \pm 1.2$
Hexane fraction	$83.3 \pm 1.9^*$
Methylene chloride fraction	$94.3 \pm 1.5$
Butyl alcohol fraction	$99.6 \pm 2.4$
Water fraction	$128.0 \pm 2.3^*$

The data represents the mean  $\pm$  SE of 5 mice  
\*Significantly different from control group( $p < 0.01$ )  
The cell proliferation(%) of concanavalin A non-treated group is  $86.9 \pm 2.1\%$

**Table 6.** Effect of water fraction of CLE separated with molecularporous membrane tubing(m.w. 3,500) on the proliferation of thymocyte in mice

Groups	Cell proliferation(%)
Control	100±1.5
m.w. 3,500(above)	131.5±2.2*
m.w. 3,500(below)	97.8±1.3

Each sample was separated with dialysis tube(m.w. 3,500) from CLE water fraction

The data represents the mean±SE of 5 mice

\*Significantly different from control group(p<0.01)

**Table 7.** Effect of solvent fractions of CLE on the production of nitric oxide in mouse peritoneal macrophage

Groups	Nitric oxide(μM)
Control	17.3±0.8
Hexane fraction	7.1±3.0**
Methylene chloride fraction	4.1±0.3**
Butyl alcohol fraction	11.1±0.8*
Water fraction	18.6±0.4

The data represents the mean±SE of 5 mice

\*Significantly different from control group

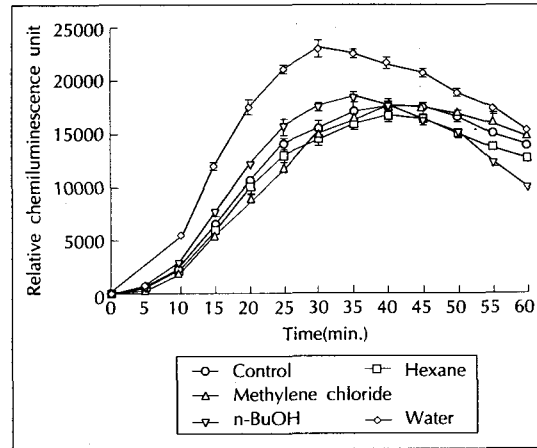
(\*p<0.05, \*\*p<0.01)

The level of nitric oxide of LPS and γ-IFN non-treated group is 1.1±0.3μM

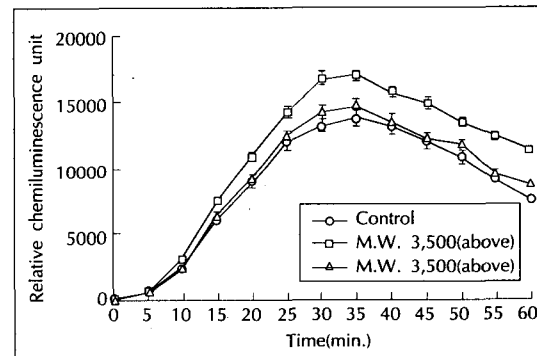
을 첨가하지 않았을 때의 nitric oxide 양은 1.1±0.3 μM 이었으며, LPS와 γ-IFN을 첨가하였을 때는 17.3±0.8μM로 nitric oxide 생성이 현저히 증가하였다. 더덕 hexane분획을 투여한 군은 LPS와 γ-IFN을 첨가하였을 때 7.1±3.0μM, 더덕 methylene chloride분획을 투여한 군은 4.1±0.3μM, 더덕 buthyl alcohol분획을 투여한 군은 11.1±0.8μM, hexane, methylene chloride 및 butyl alcohol 분획을 투여한 군은 nitric oxide 생성이 억제되었으며, 물분획을 투여한 군은 18.6±0.4μM로 대조군에 비해 별 차이가 없었다(Table 7). Nitric oxide는 macrophage 및 T lymphocyte의 apoptosis를 유도하며, T lymphocyte에서 cytokine의 생성을 조절하는 것으로 알려져 있다<sup>19)</sup>. 더덕 용매 분획중 물 분획을 제외한 분획에서 nitric oxide 생성을 억제하였다는 것은, 이들이 T lymphocyte의 apoptosis를 유도하지 않았다는 실험 1의 결과와도 관련될 수 있으리라 기대된다.

**6. 더덕 용매 분획이 복강 macrophage의 phagocytic activity에 미치는 효과**

복강 macrophage에 더덕 각 분획을 처리하였을 때 chemiluminescence는 더덕 hexane분획, n-butyl alcohol분획 및 methylene chloride분획을 투여한 군은 대조군과 별 차이가 없었으나, 더덕 물분획을 투여



**Fig. 1.** Effect of solvent fractions of CLE on lucigenin chemiluminescence of peritoneal macrophage in mice. The peritoneal macrophage was cultured in DME media mixed with opsonized zymosan. The chemiluminescence was measured with luminometer at 5min. intervals for 60 minutes. Each bar represents the mean±SE from 5 experiments.



**Fig. 2.** Effect of water fraction of CLE separated with molecularporous membrane tubing(m.w. 3,500) on lucigenin chemiluminescence of peritoneal macrophages in mice. Each bar represents the mean±SE from 5 experiments.

한 군은 대조군에 비해 chemiluminescence가 증가하였다(Fig. 1). 더덕 물분획에서 chemiluminescence가 증가하였기에 이를 molecularporous membrane tubing으로 분자량 3,500 이상과 3,500 이하로 분리하여 마우스에 투여하고 동일한 실험을 한 결과, 분자량 3,500 이상에서 macrophage의 chemiluminescence가 증가되었다(Fig. 2).

Chemiluminescence의 반응은 luminol 또는 lucigenin에 의해 증가되며, lucigenin-dependent chemiluminescence는 phagocyte에 의해 생성되는 superoxide를 의미하기 때문에 최근에는 이 방법을 phagocytic activity를 측정하는데 이용하고 있다<sup>20,21)</sup>. 분

자량 3,500 이상 투여시 chemiluminescence가 증가하였다는 것은 phagocytic activity가 증가하였다는 것을 의미한다.

이상의 실험 결과 더덕 물분획에 함유되어 있는 분자량 3,500 이상의 성분은 다당류일 가능성이 크며, 이들 성분은 thymocyte의 증식을 촉진하고, T<sub>H</sub> 세포의 population를 증가시켜 IL-2 및 IL-4와 같은 cytokine의 분비를 촉진함으로써 macrophage의 탐식작용을 증강시켰다고 사료되나 자세한 기전 및 구조에 대해서는 추후 연구되어야 할 것이다.

## 결론

더덕 70%-MeOH 추출물에 함유된 thymocyte의 증식 및 helper T 세포의 population을 증가시키고, 복강 macrophage를 활성화시키는 성분은 물분획에 함유되어 있는 분자량 3,500 이상의 성분이라 사료된다.

### ■ 감사의 글

The authors wish to acknowledge the financial support of the Korean Research Foundation made in the program year of 1997.

### Literature cited

- 1) Maeng YS, Park HK. Antioxidant activity of ethanol extract from Dodok(*Codonopsis lanceolata*). *Korean J Food Sci Technol* 23(3) : 311, 1991
- 2) Yang HS, et al. Sterols and tripenoids from *Codonopsis lanceolata*. *J Pharm Soc Korea* 19(3) : 209, 1975
- 3) Han BH, Kang SS, Woo WS. Triterpenoid from *Codonopsis lanceolata*. *J Pharm Soc Korea* 20(3) : 145, 1976
- 4) Chung BS, Im DS. On the composition of *Codonopsis lanceolata*(Benth et Hook). Program the 25th annual convention of the pharmaceutical Society of Korea, 26, 1976
- 5) Chang YK, Kim SY, Han BH. Chemical Studies on the Alkaloidal Constituents of *Codonopsis lanceolata*. *Yakhak Hoeji* 30(1) : 1, 1986
- 6) Park JY, Kim YH, Kim KS, Kwag JJ. Volatile flavor components of *Codonopsis lanceolata* Traut.(Benth. et Hook). *J Korean Agric Chem Soc* 32(4) : 338, 1989
- 7) Kim JH, Kim YR, Kim JJ, Oh CH. Comparative sampling procedures for the volatile flavor components of *Codonopsis lanceolata*.
- 8) Suh JS. Effect of *Codonopsis lanceolatae* Radix water extract on Immunocytes. *Korean J Food & Nutr* 9(4) : 379, 1996
- 9) Wyllie AH. Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Nature* 284 : 555, 1980
- 10) Zamzami N, Marchetti P, Castedo M, Zanin C, Vayssiere JL, Petit PX, Kroemer G. Reduction in mitochondrial potential constitutes an early irreversible step of programmed lymphocyte death in vivo. *J Exp Med* 181 : 1661, 1995
- 11) Suda T, Nagata S. Purification and characterization of the Fas-ligand that induces apoptosis. *J Exp Med* 179 : 873, 1994
- 12) Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application to proliferation and cytotoxic assays. *J Immunol Methods* 65 : 55, 1983
- 13) Kotnic V, Fleischmann WR Jr. A simple and rapid method to determine hematopoietic growth factor activity. *J Immunol Methods* 129 : 23, 1990
- 14) Rockett KA, Awburn MM, Cowden WB, Clark IA. Killing of *Plasmodium falciparum* in vitro by nitric oxide derivatives. *Infect Immunity* 59(9) : 3280, 1991
- 15) Blair AL, Cree IA, Beck JS, Hating MJG. Measurement of phagocyte chemiluminescence in a microtiter plate format. *J Immunol Methods* 112 : 163, 1988
- 16) Vayssiere JL, Petit PX, Rislér Y, Mignotte B. Commitment to apoptosis is associated with changes in mitochondrial biogenesis and activity in SV40 conditional cell lines. *Proc Natl Acad Sci USA* 91 : 11752, 1994
- 17) Miceli MC, Parnes JR. The role of CD4 and CD8 in T cell activation and differentiation. *Advances in Immunology* 53 : 59, 1993
- 18) Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and molecular immunology. 2nd. Saunders. pp.163-164, 1994
- 19) Okuda Y, Sakoda S, Shimaoka M, Yanagihara T. Nitric oxide induces apoptosis in mouse splenic T lymphocytes. *Immunology Letters* 52 : 135, 1996
- 20) Breiheim G, Stendahl O, Dahlgren C. Intra-and extracellular events in luminol-dependent chemiluminescence of polymorphonuclear leukocytes. *Infect Immun* 45 : 1, 1984
- 21) Boudard F, Vallot N, Cabaner C, Bastide M. Chemiluminescence and nitrite determinations by the MALU macrophage cell line. *J Immunol Methods* 174 : 259, 1994