

림포사이트 및 클로날 마크로파지계를 모델로 한 더덕열수추출물의 면역증강작용

이 중 화
 안동대학교 생명자원과학부

Immunostimulative Effect of Hot-Water Extract from *Codonopsis lanceolata* on Lymphocyte and Clonal Macrophage

Jong-Hwa Lee

School of Bioresource Science, Andong National University

The immunostimulating activities of the hot-water extract from *Codonopsis lanceolata* were investigated. The proliferation of BSA-primed lymph node cells was enhanced between 2.8- to 11.2-fold compare to control, when cultured with 1 to 25 µg/mL of *C. lanceolata* extract. It showed strong immunopotentiating activity than ginseng extract and as remarkable as *Bifidobacterium adolescentis* M101-4 known as a positive immunostimulator. The proliferation of splenocytes and Peyer's patch cells was enhanced between 4.2- to 13.8-fold and 3.1- to 6.9-fold, respectively, when cultured with 1 to 25 µg/mL of *C. lanceolata* extract. It enhanced the production of cytokines such as TNF-α and IL-6 in the culture of RAW 264.7 macrophage cells. In the culture of lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells, production of cytokines was as similar as compared to controls. In unstimulated RAW 264.7 cells, both TNF-α and IL-6 production were enhanced between 12.6- to 67.8-fold and 2.8- to 10.1-fold, respectively. The hot-water extract from *C. lanceolata* is expected to be a safe immunopotentiator to maintain the host immunity and develop a physiologically functional food.

Key words: *Codonopsis lanceolata*, immunostimulating activities, lymphocyte, cytokine

서 론

더덕(*Codonopsis lanceolata* Benth. et Hook)은 다년생 초본으로서 한국, 중국 등지에 분포하고 있으며, 한방에서는 진해, 거담, 해독, 천식, 폐결핵, 폐양, 편도선염 등에 효과가 있어서 예로부터 사삼이라 하여 인삼대용으로 널리 사용되어 왔으며, 독특한 풍미로 인해 식용으로도 널리 이용되어 왔다⁽¹⁾. 일반적으로 더덕은 고급 건강식품으로 인식되어 식품으로서로는 주로 더덕구이, 장아찌 등 생것으로 이용되고 있으며, 일부 중소기업에서 단순가공하여 생산하는 더덕즙 및 분말차의 원료로 사용되고 있다. 그러나 인삼에 버금가는 기능성식품으로서의 개발, 또는 더덕의 꾸준한 소비를 위해서는 현재까지 민간에 알려진 여러 약효는 물론 더덕의 새로운 생리적 기능을 과학적으로 구명하여 홍보할 필요가 있다.

더덕에는 아미노산, 무기질은 물론 terpenoid 성분들과,

sterol, squalene, cycloartenol, norharman, albigenic acid 등의 유효성분이 알려져 있는데^(2,3), 국내에서 진행된 더덕에 관한 연구로는 더덕의 에탄올 추출물이 항산화효과⁽⁴⁾가 있다고 하는 연구 보고가 있으며, 더덕의 열수추출물에 대해 과산화지질의 형성을 억제하는 항산화효과⁽⁵⁾ 및 중성지질과 콜레스테롤 축적을 억제하는 효과⁽⁶⁾가 있음이 보고되었다. 최근 소비자의 식품 요구 패턴이 높은 기호도와 함께 건강지향적, 기능지향적임을 파악할 때, 더덕열수추출물의 면역계에 미치는 영향에 대해 조사하는 것이 필요하며, Suh⁽⁷⁾는 더덕 열수추출물이 thymocyte의 세포증식 및 복강 마크로파지의 phagocytic activity를 증가시킴을 밝히고, 그 물질이 다당류일 것으로 추정된 바도 있다⁽⁸⁾.

그러나 복잡하고 다양한 면역작용을 설명하기 위해서는 splenocyte, lymph node, Peyer's patch 등 면역담당세포의 증식은 물론, 마크로파지의 활성화, 사이토카인의 생산 등 다양한 측면에서 면역증강작용을 조사할 필요가 있다. 특히 식품에 의한 장관면역 담당세포인 Peyer's patch는 IgA 생산을 위한 유도부위로 알려져 있으므로⁽⁹⁾ 이에 대한 세포 증식효과를 검증할 필요가 있다.

따라서 본 연구에서는 더덕의 열수추출물에 대하여 *in vitro* 계에서 여러 종류의 림파구(splenocyte, lymph node, Peyer's

*Corresponding author : Jong-Hwa Lee, Food Processing Division, School of Bioresource Science, Andong National University, 388 Song-Chon Dong, Andong, Kyongsangbuk Do 760-749, Korea
 Tel: 82-54-820-5551
 Fax: 82-54-823-1627
 E-mail: okjhlee@andong.ac.kr

patch) 증식에 미치는 영향을 조사하고 아울러 더덕열수추출물에 대하여 마크로파지세포(RAW 264.7) 모델계에서 면역기능의 중요한 매개물질인 사이토카인(TNF- α 및 IL-6) 생산 유도 정도를 측정하여 면역증강효과를 파악하고, 이미 잘 알려진 인삼추출액⁽¹⁰⁾과 비피더스균⁽¹¹⁾의 면역증강효과와 비교하고자 한다.

재료 및 방법

더덕과 인삼의 열수추출

더덕은 경북 안동 천치영농조합에서 가을에 수확한 2년근을 구입하였고, 비교군으로서 인삼은 경북 풍기에서 재배된 6년근 수삼을 구입하여 약 0~5°C에서 저장하면서, 2개월 이내에 사용하였다. 더덕 및 인삼은 세척 후 박피하지 않은 상태의 청결한 것을 이용하였다. 추출 효율의 증대를 위해 절편 형태로 절단하고, 시료:물의 비율을 1:40으로 하여 95~100°C에서 2시간 동안 열수 추출한 다음, 감압여과하여 잔사를 제거한 후 청징된 추출액을 얻었다. 동물세포배양 시료로 사용하기 위해 각 추출물을 회전농축기(Eyela)로 농축하고, 고형분 함량을 측정 한 다음 -20°C에 보관하면서 사용하였다.

Bifidobacterium의 배양

B. adolescentis M101-4는 Japan Bifidus Foundation으로부터 구입하여 37°C에서 5% lactose가 함유된 MSR 배지(Difco Laboratories)로 계대배양 및 본배양을 하였다. *B. adolescentis* M101-4는 대수기 말까지 배양한 다음, 4°C에서 1000×g로 15분간 원심분리하여 세포를 회수하고, Hanks' buffered salt 용액(Sigma Chemical Co.)으로 원하는 농도의 균수로 현탁하였다. Bifidobacterium의 생균수 측정은 Gas-Paks(BBL Microbiology Systems)을 이용하여 37°C에서 48시간 혐기적 배양을 하여 측정하였다. 동물세포배양 시료로 사용하기 위해 95°C에서 30분간 열처리 한 다음 -20°C에서 냉동보관하면서 사용하였다.

림파절세포의 증식시험

마우스는 (주)대한동물실험센터로부터 8주령의 웅성 BALB/c를 구입하여 동물실에 도착 후 1주간 환경에 적응시킨 후 처리 당 3마리를 실험에 사용하였다. 마우스의 뒷발바닥과 꼬리의 피하에 phosphate buffered saline(PBS, pH 7.0)와 complete Freund's adjuvant(Bacto-adjuvant complete H37Ra; Difco Laboratories)로 유화한 50 μ g의 bovine serum albumin(Sigma Chemical Co.)을 면역하고 2주 후에 마우스를 해부하여 생성된 림파절을 분리하였다. 분리된 림파절을 슬라이드글라스로 파쇄한 다음, 10%(v/v)의 fetal bovine serum(FBS; Gibco Laboratories)과 50 μ M의 2-mercaptoethanol을 함유한 RPMI 1640 배지(Sigma Chemical Co)로 세포 분산액을 만들고 trypan blue로 염색하여 viable cell의 농도를 측정하였다. 4×10⁵ cells/well 농도의 림파구와 일정 농도(1, 5, 25 μ g/mL)의 더덕열수추출물 또는 인삼열수추출물을 96-well plate(Costar)에 넣어 37°C, 5% CO₂ 조건하에서 72시간 배양하였다. 이때 B 세포 마이토젠인 lipopolysaccharide(LPS; Sal-

monella typhymurium 유래, Sigma Chemical Co.)는 0.1, 1, 10 μ g/mL의 농도로, T 세포 마이토젠인 Concanavalin A(Con A; Type IV, Sigma Chemical Co.)는 1, 2, 4 μ g/mL의 농도로 첨가하였다. 또한 림파구 증식 효과가 알려진 *B. adolescentis* M101-4 균주는 10⁶, 10⁷, 10⁸ cells/mL의 농도로 첨가하여 세포 증식 자극정도를 비교하였다. 세포의 증식은 Mosmann⁽¹²⁾에 의한 MTT assay를 변형하여 측정하였다. 즉, 림파구 및 각 시료와의 72시간 배양 후 10 μ L의 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide(MTT; Sigma Chemical Co.) 용액(5 mg/mL PBS)을 넣고 6시간 더 배양한 다음 100 μ L의 isopropanol을 첨가하였다. 용액의 흡광도는 microplate spectrophotometer(Spectra Max 340PC; Molecular Devices)를 이용하여 570 nm에서 측정하였다.

비장세포 및 Peyer's patch 세포의 증식 시험

면역하지 않은 정상 마우스(BALB/c, 웅성, 8주령)로부터 비장 및 Peyer's patch를 분리하여 림파절 세포와 동일한 방법으로 세포 분산액을 조제하였다. 이때 Peyer's patch의 분리는 Suzuki 등에 의한 방법⁽¹³⁾을 사용하였다. 5×10⁵ cells/well 농도의 비장세포 또는 Peyer's patch 세포와 일정 농도의 더덕열수추출물, 인삼열수추출물 또는 *B. adolescentis* M101-4 균주를 96-well plate에 넣어 37°C, 5% CO₂ 조건하에서 48시간 배양하였다. 이때 LPS와 Con A를 사용하여 증식 자극 정도를 비교하였으며, 세포의 증식은 MTT assay로 측정하였다.

마크로파지 세포주 배양 및 사이토카인 생산량 측정

RAW 264.7 세포는 American Type Culture Collection으로부터 구입하였다. 1%(v/v) NCTC 135 배지, 10% FBS, 50 μ M 2-mercaptoethanol, 1 mM sodium pyruvate, 100 U/mL penicillin 및 100 μ g/mL streptomycin 을 함유한 RPMI 1640 배지에 계대배양한 다음, 5×10⁵ cells/mL의 세포와 일정 농도의 더덕열수추출물, 인삼열수추출물 또는 *B. adolescentis* M101-4 균주를 48-well plate에 넣은 후 5% CO₂ 조건하에서 37°C에서 48시간 배양하였다. 이때 1 μ g/mL의 LPS 첨가군과 무첨가군으로 나누어 실험하였다. 배양 후 상등액을 원심분리에 의해 회수하고, 사이토카인 정량을 위해 -20°C에 보관하면서 사용하였다.

상등액 중의 사이토카인은 Dong 등⁽¹⁴⁾에 의한 방법을 변형하여 사용하였다. 즉, 0.1 M sodium bicarbonate buffer(pH 8.2)로 희석한 1 μ g/mL의 IL-6 또는 TNF- α 항체(rat anti-mouse; PharMingen)를 microtiter plate(Nunc)에 50 μ L/well 넣어 4°C에서 하룻밤 코팅시켰다. Plate를 0.2%(v/v) Tween 20(PBST)을 함유한 0.01 M PBS(pH 7.2)로 3회 세척하여 여분의 항체를 제거한 다음, 비특이적 결합을 방지하기 위하여, 3%(w/v) BSA용액 300 μ L를 넣어 37°C 30분간 반응시키고 PBST로 3회 세척하였다. 다음으로 표준의 recombinant IL-6와 TNF- α 또는 배양상등액을 50 μ L/well 넣어 37°C에서 1시간 반응시키고, 다시 PBST로 4회 세척한 후, 2 μ g/mL의 농도로 희석한 biotinylated rat anti-mouse IL-6 또는 TNF- α 항체를 50 μ L 넣어 상온에서 1시간 반응시켰다. PBST로 6회 세척한 plate에 1.5 μ g/mL 농도의 streptavidin-horseradish

peroxidase conjugate(Sigma Chemical Co.)를 50 μ L/well 넣어 상온에서 한시간 반응시키고, 8회 세척 후 결합한 peroxidase conjugate의 양을 0.1 M citric-phosphate buffer(pH 5.5)와 0.4 mM tetramethylbenzidine(Sigma Chemical Co.)을 포함하는 기질용액 100 μ L를 넣어 측정하였다. 최종적으로 동량의 6 N H₂SO₄를 넣어 반응을 정지시키고 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. Cytokine의 생산량은 Softmax curve-fitting program(Molecular Devices, Sunnyvale, CA)을 이용하여 표준곡선으로부터 산출하였다.

통계처리

본 실험에서의 통계처리는 3회 반복 실험한 결과의 평균치±표준오차로 나타내었고 유의성 검정은 student t-test 또는 Duncan's multiple range test로 하였다.

결과 및 고찰

림파절세포의 증식

Fig. 1은 BSA로 면역한 마우스로부터 림파절을 분리하여 각 시료에 대한 세포증식을 비교한 것으로 결과는 무첨가군에 대한 증식 정도를 증식 배수로 산출한 것이다. 더덕열수추출물을 1 μ g/mL 첨가 시 control에 비해 2.8배, 5 μ g/mL에서는 4.8배, 25 μ g/mL에서는 11.2배의 증식효과가 나타났으며, 추출물의 첨가농도가 증가함에 따라 증가하였다. B 세포의 마이토젠인 LPS는 물론, T 세포 마이토젠인 Con A는 낮은 농도에서도 세포증식효과가 큰 것으로 나타났으며, 이는 림파절에 포함된 B 세포는 물론 면역된 항원(BSA)에 대한 T 세포의 증식이 이루어진 것으로 추정된다. 더덕열수추출물

은 Con A나 LPS와 같은 마이토젠에 비해서는 그 효과가 약했으나 인삼열수추출물보다는 증식효과가 높은 것으로 나타났으며, *B. adolescentis*에 비해서는 열처리한 사균체를 첨가 하였으므로 동일 농도에서의 비교는 어려웠으나, 25 μ g/mL의 더덕열수추출물 첨가 시, 10⁸ cells/mL의 비피더스균체를 첨가한 것과 유사한 정도의 증식효과를 나타내었다.

비장세포 및 Peyer's patch 세포의 증식

비장 세포 및 Peyer's patch 세포에 대해서도 림파절 세포와 동일한 방법으로 세포증식을 비교하여 보았다. Fig. 2 및 Fig. 3에 나타난 바와 같이 비장세포의 splenocyte에 대해서는 더덕열수추출물을 1 μ g/mL 첨가 시 무첨가 대조군에 비해 4.2배, 5 μ g/mL에서는 7.3배, 25 μ g/mL에서는 13.8배의 증식효과가 나타났으며, Peyer's patch 세포에 대해서는 1 μ g/mL 첨가 시 3.1배, 5 μ g/mL에서는 4.4배, 25 μ g/mL에서는 6.9배의 증식효과가 나타났다. 더덕열수추출물은 이들 림파절세포에 대해 농도 의존적인 세포의 증식을 보였고, Con A나 LPS와 같은 마이토젠에 비해서는 그 효과가 약했으나 인삼열수추출물보다는 증식효과가 약간 높은 것으로 나타났다. 또한 기존의 면역증강효과가 있는 비피더스균과는 유사한 결과를 나타내었다. 특히 장관 면역 담당 기관인 Peyer's patch 세포에 대한 증식효과가 나타난 것으로 보아 식용으로서의 더덕 섭취 시 장내에서의 효과를 기대해 볼 수 있다. Suh⁷⁾는 더덕추출물이 흉선 세포(thymocyte) 중 helper T 세포의 비율을 증가시키고 이들이 분비하는 IL-2 및 IL-4와 같은 사이토카인에 의해 thymocyte의 증식이 된 것으로 고찰하였고, 인삼추출물¹⁰⁾에 대해서는 B세포주인 Daudi(human burkitt lymphoma)나 T세포주인 Jurkat(monkey lymphoblastic leukemia)

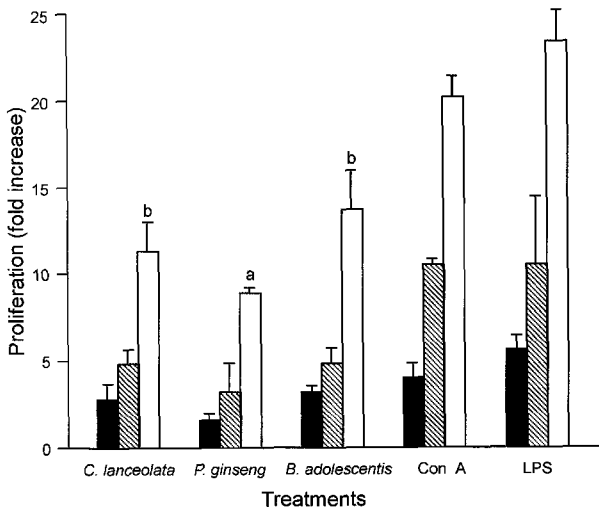


Fig. 1. Proliferation of BSA-primed murine lymph node cells. Lymph node cells (4×10^5 cells/well) were cultured at 37°C in 5% CO₂ with *Codonopsis lanceolata* extract (■, 1 μ g/mL; ▨, 5 μ g/mL; □, 25 μ g/mL), *P. ginseng* extract (■, 1 μ g/mL; ▨, 5 μ g/mL; □, 25 μ g/mL), *B. adolescentis* M101-4 (■, 10⁶ cells/mL; ▨, 10⁷ cells/mL; □, 10⁸ cells/mL), Con A (■, 1 μ g/mL; ▨, 2 μ g/mL; □, 4 μ g/mL) or LPS (■, 0.1 μ g/mL; ▨, 1 μ g/mL; □, 10 μ g/mL) and proliferation was detected by MTT assay. Values with different letters are significant different at p<0.05.

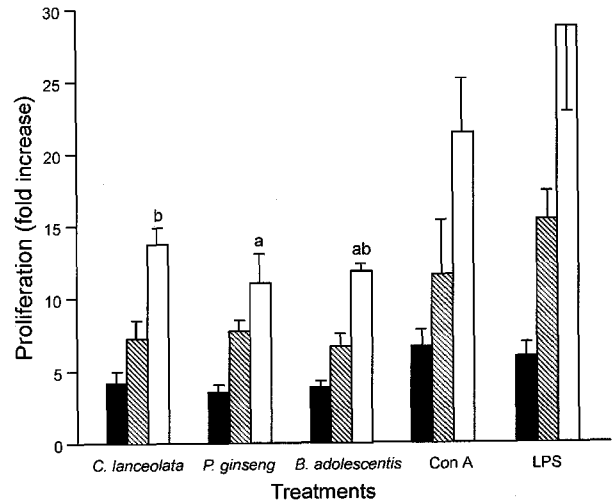


Fig. 2. Proliferation of murine splenocytes. Splenocytes (4×10^5 cells/well) were cultured at 37°C in 5% CO₂ with *Codonopsis lanceolata* extract (■, 1 μ g/mL; ▨, 5 μ g/mL; □, 25 μ g/mL), *P. ginseng* extract (■, 1 μ g/mL; ▨, 5 μ g/mL; □, 25 μ g/mL), *B. adolescentis* M101-4 (■, 10⁶ cells/mL; ▨, 10⁷ cells/mL; □, 10⁸ cells/mL), Con A (■, 1 μ g/mL; ▨, 2 μ g/mL; □, 4 μ g/mL) or LPS (■, 0.1 μ g/mL; ▨, 1 μ g/mL; □, 10 μ g/mL) and proliferation was detected by MTT assay. Values with different letters are significant different at p<0.05.

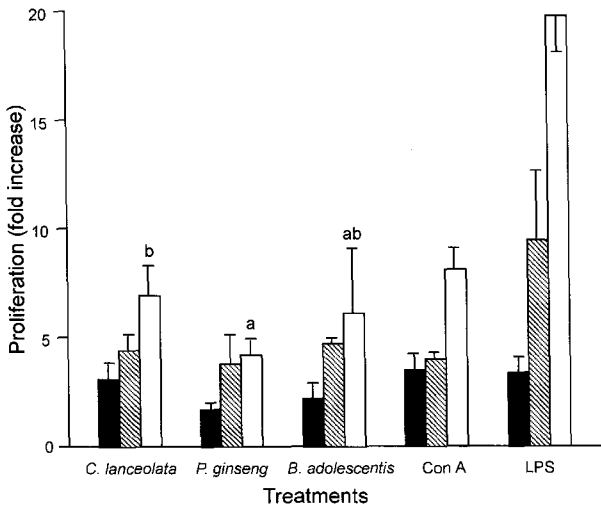


Fig. 3. Proliferation of murine Peyer's patch cells.

Peyer's patch cells (4×10^5 cells/well) were cultured at 37°C in 5% CO_2 with *Codonopsis lanceolata* extract (■, 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$; ▨, 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$; □, 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$), *P. ginseng* extract (■, 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$; ▨, 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$; □, 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$), *B. adolescentis* M101-4 (■, 10^6 cells/mL; ▨, 10^7 cells/mL; □, 10^8 cells/mL), Con A (■, 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$; ▨, 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$; □, 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$) or LPS (■, 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$; ▨, 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$; □, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) and proliferation was detected by MTT assay. Values with different letters are significant different at $p < 0.05$.

은 물론 쥐의 비장이나 림프절로 부터 분리하여 초기배양된 정상적인 B, T림프구 세포들에 대해서도 인삼의 수용성 추출물에 의해 세포증식이 1.5배 내지 4배 정도의 높은 수준으로 촉진되었으며, 인삼의 saponin, polysaccharide 성분등도 강한 세포증식 촉진효과를 발휘하였다고 보고되어 있다. 본 실험에서는 더덕열수추출물이 LPS와 증식패턴이 유사한 것으로 보아 B 세포에 특이적으로 작용하는 마이토젠으로 생각되나, 본 실험의 결과만으로는 세포증식의 target 세포가 어느 것인지 알 수 없으므로 이에 대해 추후 연구가 필요할 것으로 사료된다.

마크로파지 세포의 사이토카인 생산

더덕열수추출물, 인삼열수추출물 및 비피더스균에 대하여 마크로파지세포(RAW 264.7) 모델계에서 면역 기능의 중요한 매개물질인 사이토카인 생산 유도 정도를 ELISA 방법에 의해 측정하였다. Table 1에 나타낸 바와 같이 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 LPS로 미리 자극된 마크로파지에 대해서는 TNF- α 생산을 촉진하지 않았으나, LPS를 첨가하지 않은 마크로파지에 대해서는 더덕열수추출물을 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 첨가 시 대조구에 비해 12.6배, 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서는 42.7배, 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서는 67.8배나 TNF- α 생산을 촉진하였다. 마크로파지가 생산하는 또 다른 사이토카인인 IL-6에 대하여는 TNF- α 보다는 다소 미약한 효과가 관찰되어 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 첨가 시 약 10배의 IL-6 생산을 촉진하였다(Table 2). 이상의 결과로부터 더덕열수추출물이 마크로파지를 직접 자극하여 사이토카인을 생산하게 하는 것으로 생각되며 추후 *in vivo*에서의 실험 및 물질의 분리가 진행되어야 할 것으로 사료된다. 면역증강물질에 대해서는 버섯류의 lentinan 및 schizophyllan 등이 알려져 있으며 β -glucan

Table 1. Effect of *C. lanceolata* on TNF- α production by LPS-stimulated (LPS+) and unstimulated (LPS-) RAW 264.7 cells

Treatment	Dose (μg or cells/mL)	TNF- α Relative change ¹⁾ (fold control)	
		LPS+	LPS-
<i>C. lanceolata</i>	1	0.9 \pm 0.4 ²⁾	12.6 \pm 3.2**
	5	1.8 \pm 0.7*	42.7 \pm 1.8**
	25	1.1 \pm 0.8	67.8 \pm 4.5**
<i>P. ginseng</i>	1	1.2 \pm 0.6	11.1 \pm 3.2*
	5	1.3 \pm 1.1	13.9 \pm 2.1**
	25	1.0 \pm 0.8	54.3 \pm 7.4**
<i>B. adolescentis</i>	10^6	0.8 \pm 0.1	11.4 \pm 0.9**
	10^7	2.1 \pm 1.2*	52.1 \pm 3.7**
	10^8	1.3 \pm 0.7	78.3 \pm 5.4**

¹⁾RAW 264.7 cells (5×10^5 cells/mL) were cultured at 37°C in 5% CO_2 with various samples under 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ of LPS-stimulated (LPS+) or unstimulated (LPS-) conditions, and TNF- α production in culture supernatant was assessed by ELISA.

²⁾Results were expressed as the mean \pm SD (n=3) of fold increase for triplicate.

*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$: Significant different from the control.

Table 2. Effect of *C. lanceolata* on IL-6 production by LPS-stimulated (LPS+) and unstimulated (LPS-) RAW 264.7 cells

Treatment	Dose (μg or cells/mL)	IL-6 Relative change ¹⁾ (fold control)	
		LPS+	LPS-
<i>C. lanceolata</i>	1	1.3 \pm 0.3 ²⁾	2.8 \pm 0.2*
	5	2.1 \pm 0.7*	3.5 \pm 0.7*
	25	1.7 \pm 0.9*	10.1 \pm 2.3**
<i>P. ginseng</i>	1	1.1 \pm 0.3	3.1 \pm 0.9*
	5	1.5 \pm 0.4*	7.1 \pm 1.4*
	25	0.4 \pm 0.8*	4.1 \pm 1.8*
<i>B. adolescentis</i>	10^6	1.3 \pm 1.1	1.7 \pm 0.3*
	10^7	2.2 \pm 0.9*	4.6 \pm 0.9*
	10^8	1.7 \pm 0.8*	12.1 \pm 2.6**

¹⁾RAW 264.7 cells (5×10^5 cells/mL) were cultured at 37°C in 5% CO_2 with various samples under 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ of LPS-stimulated (LPS+) or unstimulated (LPS-) conditions, and IL-6 production in culture supernatant was assessed by ELISA.

²⁾Results were expressed as the mean \pm SD (n=3) of fold increase for triplicate.

*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$: Significant different from the control.

구조를 가진 이들 다당류는 생체방어계에 중요한 면역세포의 증식 분화 등을 촉진하여 항암제로 이용되고 있다(15-16). 또한 유산균의 세포벽성분 특히 peptidoglycan 분획과 같은 다당류에 항암작용 및 면역증강작용이 있음이 다수 등이 보고(17-18)되어 있으며, Yu와 Shin(19)은 창출의 열수추출획분의 장관면역활성성분이 다당류일 것으로 추정하였다. 대부분 식물류의 열수추출물에는 lignin을 포함한 다량의 다당류를 포함하고 있으며, 더덕열수추출물에 대한 기존의 보고(7-8)를 볼 때 면역증강작용을 나타내는 물질이 다당류일 것으로 추정되나, 추후 활성물질을 분리하여 그 구조와 기능의 상관관계를 밝히는 것이 필요할 것으로 사료된다.

요 약

더덕열수추출물의 면역증강효과를 조사하였다. 더덕열수추출물을 1에서 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 첨가했을 때 BSA로 면역된 마우스의 림프절 세포는 무첨가군에 비해 2.8에서 11.2배의 세포증식 효과를 나타냈다. 더덕열수추출물은 인삼열수추출물보다 증식효과가 높게 나타났으며, 면역증강효과가 알려진 *B. adolescentis* M101-4 와는 유사한 정도의 효과를 보였다. 비장 및 Peyer's patch 세포에 대해서는 1에서 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 더덕열수추출물을 첨가했을 때 각각 4.2에서 13.8배, 3.1에서 6.9배의 증식효과를 나타냈다. 더덕열수추출물은 또한 RAW 264.7 세포주에 의한 TNF- α 나 IL-6 같은 사이토카인 생산을 자극하였다. RAW 264.7 세포를 lipopolysaccharide로 자극했을 경우, TNF- α 및 IL-6는 무첨가군에 비해 별다른 증진효과를 나타내지 않았으나, 자극하지 않은 RAW 264.7 세포에 대해서는 TNF- α 는 12.6에서 67.8배, IL-6는 2.8에서 10.1배 증가하였다. 이상의 결과로 더덕열수추출물을 이용하여 노화 및 질병에 따라 수반되는 면역력 감소를 방지하는 기능성식품 및 신소재로의 개발이 기대된다.

감사의 글

이 논문은 1999년도 안동대학교 학술연구조성비에 의해 이루어진 연구결과로서 연구비 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. Jang, J.G. Sanyacho Dongeubogam. pp. 156-157. Academy Press, Seoul (2001)
2. Kim, J.H. and Chung, M.H. Pharmacognostical studies on *Codonopsis lanceolata*. Korean J. Pharmacog. 6: 43-47 (1975)
3. Chung, M.S. Composition and color of *Codonopsis lanceolata* affected by cultivation methods. Korean J. Dietary Culture 14: 529-534 (1999)
4. Maeng, Y.S. and Park, H.K. Antioxidant activity of ethanol extract from Dodok (*Codonopsis lanceolata*). Korean J. Food Sci. Technol. 23: 311-316 (1991)
5. Han, E.G. and Cho, S.Y. Effects of *Codonopsis lanceolata* water extract on the activities of antioxidative enzymes in carbon tetrachloride treated rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 26: 1181-1186 (1997)
6. Han, E.G., Sung, I.S., Moon, H.G. and Cho, S.Y. Effects of *Codonopsis lanceolata* water extract on the level of lipid in rats

- fed high fat diet. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 27: 940-944 (1998)
7. Suh, J.S. Effect of *Codonopsis lanceolata* Radix water extract on immunocytes. Korean J. Food Nutr. 9: 379-384 (1996)
8. Suh, J.S. and Eun, J.S. Isolation of active components on immunocytes from *Codonopsis lanceolata*. Korean J. Nutr. 31: 1076-1081 (1998)
9. Sminia, T., Wilders, M.M., Janes, E.M. and Hoefsmit, E.C. Characteristics of non-lymphoid cells in Peyer's patches of the rat. Immunobiol. 164: 136-143 (1983)
10. Lee, H.Y. and Lee, H.S. Stimulatory effect of Korean red-ginseng extract on the proliferation and cellular activity of lymphocytes. Korean J. Ginseng Sci. 22: 60-65 (1998)
11. Lee, J., Ametani, A., Enomoto, A., Sato, Y., Motoshima, H., Ike, F. and Kaminogawa, S. Screening for the immunopotential activity of food microorganisms and enhancement of the immune response by *Bifidobacterium adolescentis* M101-4. Biosci. Biotech. Biochem. 57: 2127-2132 (1993)
12. Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J. Immunol. Methods. 16: 55-63 (1983)
13. Suzuki, I., Hashimoto, K. and Yadomae, T. Rapid preparation of functional murine Peyer's patch cells. Bioscience Microflora 9: 87-98 (1990)
14. Dong, W., Azcona-Olivera, J. I., Brooks, K. H., Linz, J. E. and Pestka, J. J. Elevated gene expression and production of interleukins 2, 4, 5, and 6 during exposure to vomitoxin (deoxynivalenol) and cycloheximide in the EL-4 thymoma. Toxicol. Appl. Pharmacol. 127: 282-290 (1994)
15. Chihara, G., Hamuro, J., Maeda, Y.Y., Shiio, T., Suga, T., Takasuka, N., Sasaki, T. Antitumor and metastasis-inhibitory activities of lentinan as an immunomodulator: an overview. Cancer Detect Prev. Suppl. 1: 423-443 (1987)
16. Komatsu, N., Okubo, S., Likumoto, S., Kimura, K., Saito, G. and Sakai, S. Host-mediated antitumor action of schizophyllan, a glucan produced by *Schizophyllum commune*. Gann. 60: 137-143 (1969)
17. Damais, C., Bona, C., Chedid, L., Fleck, J., Nauciel, C. and Martin, J. P. Mitogenic effect of bacterial peptidoglycans possessing adjuvant activity. J. Immunol. 115: 268-271 (1975)
18. Sekine, K., Watanabe-Sekine, E., Toida, T., Kawashima, T., Kataoka, T. and Hashimoto, Y. Adjuvant activity of the cell wall of *Bifidobacterium infantis* for *in vivo* immune responses in mice. Immunopharmacol. Immunotoxicol. 16: 589-609 (1994)
19. Yu, K.W. and Shin, K.S. Bone marrow proliferation activity through intestinal immune system by the components of *Atractylodes lancea* DC. Korean J. Food Sci. Technol. 33: 135-141 (2001)

(2002년 5월 7일 접수; 2002년 6월 7일 채택)