

오가피의 면역조절작용

김남석 · 권진¹ · 고하영² · 최동성 · 오찬호*

우석대학교 의약생명공학과, 1:군장대학 의무행정과, 2:우석대학교 식품영양학과

Immunoregulatory Action of OGAPI

Nam Seok Kim, Jin Kwon¹, Ha Young Koh², Dong Seong Choi, Chan Ho Oh*

Department of Medicinal Biotechnology, Woosuk University.

1:Department of Medical Administration, Kunjang College, 2:Department of Food Nutrition, Woosuk University

The purpose of this research was to investigate the immunoregulatory effect and the leukemia cell apoptosis of EtOH extract of OGAPI(OGP). The proliferation of cultured splenocytes, thymocytes and mesenteric lymph node cells were enhanced by the addition of OGP. Splenic and thymic T lymphocytes, especially T_H and T_C cells were significantly increased in OGP-administered mice. OGP markedly increased the production of γ -interferon in mice serum and accelerated the phagocytic activity in peritoneal macrophages. OGP treatment enhanced the apoptosis of L1210 mouse leukemia and Jurkat, Molt4 human leukemia cells, and increased the expression of apoptosis-related ICE, c-myc, p53 gene in Jurkat cell. These results suggest that OGP have an immunoregulatory action and anti-cancer activity.

Key words : Immunoregulatory, γ -interferon, Phagocytic activity, Apoptosis

서론

오가피는 두릅나무과(Araliaceae)에 속하는 낙엽 활엽관목으로 일명 '오갈피'라고도 하며 학명은 "Acanthopanax"이다. 오가피는 주로 동아시아지역에 약 30여 종류가 보고되어 있고 그중 한국에서 자생하는 약용 오가피는 가시오가피, 왕가시오가피, 민가시오가피, 지리산오가피, 털오가피, 섬오가피, 오가피, 서울오가피 등이 있다. [신농본초경]에는 오가피가 "불로장생의 약초"로 표기되어 있고, [본초강목]에는 "한 묶음의 오가피를 얻는 것이 한 마차의 황금을 얻는 것보다 낫다"고 기술되어 있으며 허준의 [동의보감]에는 "한줌의 오가피를 먹어 수를 더하고 늙지 않으니 실로 신선의 약이다"라고 기술되어 있다. 이러한 오가피는 간기능 보전과 해독작용, 면역기능의 강화, 알레르기성 질환에 효능이 있는 것으로 알려져 있으며 유효성분으로는 리그난 배당체인 Acanthoside B, D 등이 있고 면역력을 증강시키는 수용성 다당체도 분리되었다^{1,2)}.

본 연구에서는 다양한 생리작용을 가지고 있는 오가피

(OGP)에탄올 추출물의 각종 면역세포의 활성화와 암세포의 아포토시스에 미치는 효과를 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

본 실험에 사용한 생쥐는 BALB/c계통 웅성(8주령, 20±2 g)을 대한실험동물(주)에서 구입해서 사용했으며, 사육은 온도 22±2℃, 습도 55±5%, dark/light(12 시간)조건 하에서 고형 pellet 사료와 물을 자유 섭취하도록 하였다.

2. 시약 및 기구

RPMI1640 media, fetal bovine serum, phosphate buffered saline, propidium iodide, thioglycollate, lucigenin, zymosan, 3'-dihexyloxycarbocyanine iodide(DiOC₆)등은 Sigma., anti-murine IFN- γ antibody, anti-murine IL-4 antibody(Pharmingen), anti-rabbit Bcl-2 antibody(Santa cruz), TEMED, Taq DNA polymerase, M-MLV reverse transcriptase, Oligo(dT), PCR marker(Promega), dNTP set(Amersham pharmacia), PE conjugated anti-CD4, FITC conjugated anti-CD8, PE-anti B220,

* 교신저자 : 오찬호, 전북 완주군 삼례읍 후정리 490, 우석대학교

· E-mail : choh@woosuk.ac.kr, · Tel : 063-290-1431

· 접수 : 2004/07/21 · 수정 : 2004/08/25 · 채택 : 2004/09/24

FITC-anti Thy 1 antibody 등은 Caltag, 기타 시약은 특급시약 및 세포배양용 시약을 사용하였으며, culture flask(Nunc), 96well microplate(Costar), inverted microscope (Zeiss), ELISA reader (Dynatech, MR5000), luminometer (Berthold, 96LP), flow cytometer(Coulter, EPICS-XL), PCR system(Perkin Elmer, Gene Amp PCR system 2400), 그 외 centrifuge (VS-15000CF), CO₂ incubator, freeze dryer 등은 Vision사의 제품을 사용하였다.

3. 검액 조제

실험에 사용한 오가피는 500 g을 50 %의 EtOH 2000 ml로 2 회 추출한 후, 여과해서 여액을 감압 농축한 다음, freeze dryer로 동결건조하여 분말 50.5 g(회수율 10.1 %)을 얻어(이하 OGP라 함), 동물실험시에는 생리식염수, 세포배양용에는 멸균 PBS에 용해시켜 사용하였다.

4. 비장, 흉선 및 장간막 임파절세포의 생존율 측정

생쥐를 경추탈구시켜 비장 및 흉선을 무균적으로 적출하고 각각의 세포를 세정(×3회, DPBS, 1500rpm, 10분)해서 각각의 세포 부유액을 조제한 후, 1×10⁶cells/well이 되도록 세포수를 조정 한 다음, 비장세포 부유액에는 LPS(10 µg/ml), 흉선 및 장간막 임파절세포 부유액에는 Con A(1 µg/ml)와 1~100 µg/ml의 OGP를 첨가하여 48시간 동안 37℃의 5% CO₂배양기 내에서 배양하였다. 배양 종료 4시간 전에 5 mg/ml 농도로 DPBS(pH 7.4)에 희석 된 MTT용액 20 µl를 각 well에 첨가하고, 0.1 N HCl에 녹인 10% SDS 100 µl로 용해시켜 18시간 동안 운박지로 빛을 차단하였다. 발색된 각 well의 흡광도를 ELISA reader를 이용해서 570 nm에서 측정하고 대조군의 흡광도와 비교하여 세포생존율을 백분율로 환산하였다³⁾.

5. 비장 및 흉선임파구의 아집단 측정

생쥐에 OGP(500 mg/kg)를 경구 투여하고 경추 탈구시켜 비장 및 흉선을 적출한 후, 비장 및 흉선세포 부유액을 조제하고 1×10⁶cells/well에 PE/FITC conjugated-anti B220 및 Thy1 antibody와 PE-anti CD4/FITC-anti CD8 monoclonal antibody (1:30 dilution)로 이중 염색하여 4℃에서 30분 동안 반응시키고 flow cytometer(excitation: 488 nm, emission: 525 nm/FITC, 575 nm/PE)를 이용하여 각각의 세포 중의 임파구의 아집단을 측정하였다⁴⁾.

6. 혈청 lymphokine(IFN-γ, IL-4)의 측정

1) IFN-γ의 측정

IFN-γ의 측정은 sandwich ELISA 방법으로 혈청 내 IFN-γ의 농도를 측정하였다⁵⁾. 4 µg/ml 농도로 0.1M phosphate buffer(pH 9.0)에 희석한 anti-mouse IFN-γ antibody를 96well microplate에 각 well당 100 µl씩 코팅하여 4℃에서 24 시간 동안 반응시켜 흡착시켰다. 그 후 PBS로 2회 세척하고, 1% BSA-PBS를 각 well 당 150 µl씩 가하여 실온에서 1 시간 동안 blocking을 하고 PBS로 3회 세척하였다. 1% BSA-PBS로 희석한 혈청 시료액과 표준용액 (recombinant mouse IFN-γ)을 각 well당 100 µl씩 넣어 실온에

서 1시간 동안 반응시킨 후 PBS로 3회 세척하였다. 그 후 2 µg/ml 농도로 1% BSA-PBS에 희석한 biotinylate conjugated anti-murine IFN-γ antibody를 각 well 당 100 µl씩 넣어 실온에서 1 시간 동안 반응시켰다. PBS로 3회 세척하고 2 µg/ml 농도로 희석한 streptavidin-alkaline phosphatase를 각 well당 100 µl씩 가하고 다시 실온에서 1 시간 동안 반응시켰다. 그 후 PBS로 5회 세척한 후 p-nitrophenyl phosphate 용액을 각 well당 100 µl씩 가하고 실온 차광 하에서 발색반응을 시켰다. 약 30분 후 50 µl의 3N NaOH용액으로 반응을 정지시키고, 30분 내에 ELISA reader로 405 nm 파장에서 흡광도를 측정 비교하였다.

2) IL-4의 측정

IL-4의 측정은 IFN-γ의 측정방법에 준하였다.

7. 복강 대식세포의 탐식활성 측정

OGP(500 mg/kg)를 경구 투여한 생쥐 복강에 3% thioglycollate 2 ml를 주사하고 3일 후, 경추 탈구시켜 5 ml의 cold-PBS를 복강에 주입, 복강 삼출세포를 수집하여 원심분리 (1,500 rpm, 5분)한 후, RPMI1640 배지에 부유시켜 petri dish에 넣고 CO₂ 배양기에서 2시간 동안 배양한 다음, 부착되지 않은 세포를 제거하고 petri dish 밑면에 부착한 대식세포를 scrapper로 모아 원심 분리(1,500 rpm, 5분)해서 세포수를 1×10⁷cells/ml가 되도록 DME(0.34 g/L NaHCO₃, 2.6 g/L HEPES, pH7.2)에 부유시켜 사용하였다. Zymosan용액의 제조는 zymosan 67 mg을 10 ml의 DPBS에 넣어 37℃에서 30분간 방치한 후 동일한 양의 DPBS로 2회 세척하고 FBS가 10% 첨가된 10 ml의 DME에 재부유시켜 사용하였다. Lucigenin용액의 10 ml의 DPBS에 용해한 후 여과 멸균하여 -20℃에서 보관하면서 사용하였다(stock solution). Lucigenin stock solution은 사용 직전에 DME배지에 1/10로 희석하여 사용하였다. Chemiluminescence측정은 luminometer를 이용하여 측정용 microplate well (white)에 준비된 세포부유액 100 µl와 lucigenin 50 µl를 주입하고 37℃에서 15분 동안 전처리한 후, zymosan용액을 첨가하여 최종량이 200 µl가 되도록 하고, 5분 간격으로 60 분간 chemiluminescence를 측정하였다⁶⁾.

8. Flow cytometer에 의한 백혈병세포 아포토시스 측정

계대배양종인 L1210(mouse leukemia), Jurkat 및 Molt4(human leukemia)세포를 96 well culture plate에 1×10⁶cells/well이 되도록 세포를 조정 한 다음, 각 농도의 OGP를 첨가하여 24시간 동안 배양하고 배양이 종료된 후, 각 세포를 수집해서 PI로 염색하여 DNA fragmentation (sub-G1 peak)을 정량하였다⁷⁾.

9. Mitochondrial transmembrane potential(ΔΨm) 측정

Jurkat세포 배양계에 OGP(1-100 µg/ml)를 첨가한 후, 24시간 동안 배양한 다음 세포를 수집해서 세정(×3회, PBS)한 후, 1×10⁶cells/well이 되도록 각 세포를 조정, 원심분리(1,500 rpm, 10분)하고 침전시킨 세포분획에 DiOC₆(최종농도: 40 nM)로 염색시켜 37℃에서 15분간 반응시킨 다음, flow cytometer(excitation: 488 nm, emission: 525 nm)에서 mitochondrial transmembrane

potential($\Delta\Psi_m$)을 측정하였다⁸⁾.

10. RT-PCR에 의한 ICE, c-myc, p53 mRNA의 발현

Jurkat세포에 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 OGP를 첨가한 후, 24 시간 동안 배양하고 RNA를 분리하였다. Total RNA는 Trizol reagent를 이용하였으며 제조사의 방법에 준하였다⁹⁾. cDNA는 M-MLV reverse transcriptase와 random hexamer를 primer로 이용하여 합성하였고, Taq DNA polymerase를 이용하여 Perkin Elmer 2400 thermocycler에서 30 cycle동안 증폭하였다. 각각의 cycle은 95 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30 초간 denaturation시킨 후, 55 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30 초간 annealing시키고, 72 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30 초간 extension시켰다. PCR product는 1% agarose gel에서 전기영동하고, ethidium bromide로 염색하였다. PCR에 사용된 primer는 다음과 같다: ICE sense(5'-AAT GCT GCT ACA AAA TCT GG-3'), ICE antisense(5'-ATC ATC CTC AAA CTC TTC TG-3'), c-myc sense(5'-CGT CTC CAC ACA TCA GCA CA-3'), c-myc antisense(5'-CCG CAA CAA GTC CTC TTC AG-3'), p53 sense(5'-CCT CCT GGC CCC TGT CAT CT -3'), p53 antisense(5'-ACA AAC ACG CAC CTC AAA GC -3').

11. 통계처리

통계처리는 student's t-test로 하였으며, $p < 0.05$ 이하를 유의성이 있는 것으로 판정하였다¹⁰⁾.

실험 결과

1. 면역세포의 생존율에 미치는 효과

생쥐의 비장세포는 대조군인 LPS(10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 처리군에 비하여 OGP 10 및 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 첨가군에서 세포생존율이 유의성 있게 촉진되었으며, 또한 흉선세포와 장간막 임파절세포에서도 대조군인 Con A(1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 처리군에 비하여 OGP 첨가군에서 농도의존적으로 흉선세포와 장간막 임파절세포의 생존율이 증가되었다(Fig. 1).

2. 비장 및 흉선세포의 아집단에 미치는 효과

OGP를 첨가한 생쥐 비장 및 흉선세포 배양계에서의 아집단 변화를 살펴본 결과, 비장세포는 대조군에 비하여 10 및 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 OGP 첨가군에서 B세포가 현저하게 감소하였으나 T세포는 동일한 농도의 OGP 첨가군에서 유의성 있게 증가하였다. 흉선세포에서도 대조군에 비하여 Th세포와 Tc세포가 OGP(10, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)첨가에 의해 현저하게 증가하였다(Table 1). 또한, OGP를 경구투여한 결과는 비장 T세포가 유의성 있게 증가하였으며, 그중에서 Th세포 및 Tc세포가 증가하였다. 흉선세포에서는 Tc세포가 유의성 있게 증가되었다(Table 2)

3. 혈청 lymphokine(IFN- γ 와 IL-4)의 생성에 미치는 효과

OGP의 혈청 IFN- γ 와 IL-4의 생성에 미치는 영향을 관찰한 결과, IFN- γ 는 대조군에 비하여 OGP 투여군에서 유의성 있게 증

가하였으나 IL-4는 대조군과 큰 차이가 관찰되지 않았다(Table 3).

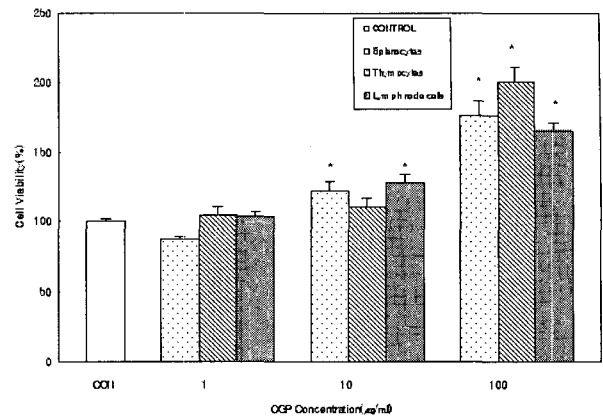


Fig. 1. Effect of cell viability on the OGP-pretreated mouse splenocytes, thymocytes and mesenteric lymph node cells *in vitro*. OGP(1~100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) was treated to cultured splenocytes or thymocytes for 48 hours, The cells assayed by MTT method. The OD of each well was measured at 570 nm with a microplate reader. The data represents the mean \pm SE of 3 experiments. *: Significantly different from control group($p < 0.05$).

Table 1. Effect of OGP on the lymphocyte subpopulation change in mouse splenocytes and thymocytes(*in vitro*).

OGP Treatment ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Splenocytes(%)		Thymocytes(%)	
	B cell	T cell	T _H	T _C
CONTROL	45.4 \pm 3.9	35.2 \pm 3.3	9.3 \pm 0.7	5.5 \pm 0.5
1	50.3 \pm 5.1	45.1 \pm 4.1	10.7 \pm 1.0	7.2 \pm 1.0
10	31.9 \pm 3.4*	62.7 \pm 5.4*	12.6 \pm 1.1*	9.4 \pm 0.9*
100	29.2 \pm 3.1*	70.5 \pm 5.9*	17.5 \pm 1.6*	8.2 \pm 0.7*

OGP(1~100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) were treated to splenocytes and thymocytes for 48 hours, thereafter each cells were collected and lymphocyte subpopulation was measured by a flow cytometer staining with PE or FITC conjugated anti-B220/Thy1 or CD4/CD8 monoclonal antibody. Each data represents the mean \pm SE of 5 mice. *: Significantly different from control group($p < 0.05$).

Table 2. Effect of OGP on the lymphocyte subpopulation change in mouse splenocytes and thymocytes(*in vivo*).

Treatment	Splenocytes(%)		Thymocytes(%)	
	B cell	T cell	T _H	T _C
CONTROL	37.9 \pm 3.1	15.5 \pm 0.8	10.4 \pm 0.3	3.9 \pm 0.2
OGP	39.7 \pm 2.9	21.0 \pm 1.0*	11.8 \pm 0.4	8.6 \pm 0.2*
		14.8 \pm 0.2*		

OGP(500 mg/kg) was administered *p.o.* once a day for 7 days, thereafter the cells were collected and the subpopulation was measured by a flow cytometer staining with B220/Thy1 or CD4/CD8 monoclonal antibody. The data represents the mean \pm SE of 5 mice. *: Significantly different from control group($p < 0.05$).

4. 복강 대식세포의 탐식활성에 미치는 효과

생쥐에 OGP를 투여하고 lucigenin chemiluminescence 측정법을 이용하여 복강 대식세포의 탐식활성을 살펴본 결과(Fig. 2), zymosan란 처리한 대조군에 비하여 OGP 투여군에서 대식세포의 탐식력이 현저하게 증가되었다.

5. 백혈병세포의 생존율에 미치는 효과

계대배양한 L1210, Jurkat 및 Molt4세포에 OGP를 첨가해서 세포생존율을 측정된 결과, 대조군에 비하여 10 및 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의

OGP 첨가군에서 각각의 백혈병세포의 생존율이 농도의존적으로 억제되었다(Table 4).

Table 3. Lymphokine production in OGP-administered mice serum

OGP(mg/kg)	Lymphokine(pg/ml)	
	IFN- γ	IL-4
CONTROL	35.1 \pm 4.3	30.2 \pm 4.1
500	100.5 \pm 9.1*	41.8 \pm 5.7

OGP(500 mg/kg) was administered p.o. once a day for 7 days, and the collected serum was assayed lymphokine with ELISA kit. The data represents the mean \pm SE of 5 mice. *: Significantly different from control group(*p<0.05).

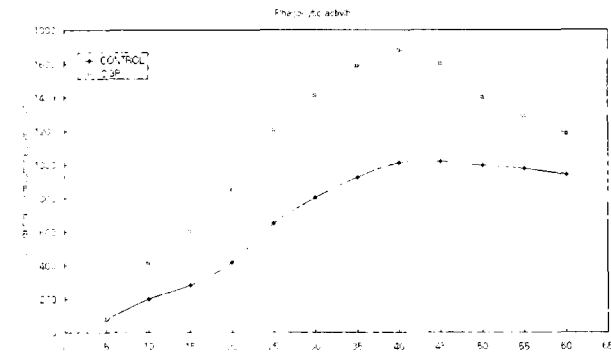


Fig. 2. Phagocytic activity of peritoneal macrophage in OGP-administered mice. OGP(500 mg/kg) was administered p.o. once a day for 7 days, and the peritoneal macrophages were collected and cultured in RPMI1640 media mixed with opsonized zymosan. Luciferin chemiluminescence was measured 5 minutes intervals for 60 minutes.

Table 4. Effect of OGP on the cell viability in cultured leukemia cells

OGP(μ g/ml)	Cell viability(%)		
	L1210	Jurkat	Molt4
CONTROL	100.0 \pm 2.9	100.0 \pm 2.7	100.0 \pm 3.1
0.1	95.3 \pm 5.2	94.5 \pm 4.9	90.3 \pm 5.5
1	87.6 \pm 4.8	90.4 \pm 4.5	86.8 \pm 5.7
10	80.1 \pm 3.7*	84.2 \pm 4.8*	81.3 \pm 5.0*
100	42.7 \pm 2.9**	54.3 \pm 4.1**	39.7 \pm 2.7**

OGP(0.1~100 μ g/ml) was treated with cultured L1210, Jurkat or Molt4 cells, and incubated for 48 hours, and the cells assayed by VIT method. The OD of each well was measured at 570 nm with a microplate reader. The data represents the mean \pm SE of 3 experiments. *: Significantly different from control group(*p<0.05, **p<0.01).

6. 백혈병세포의 아포토시스에 미치는 효과

L1210세포 배양계에 OGP를 첨가, 배양해서 sub-G1 peak를 측정 한 결과, 대조군에 비하여 10, 100 μ g/ml의 OGP 첨가로 L1210세포의 아포토시스가 촉진되었다. 또한 Jurkat세포에서는 1~100 μ g/ml의 OGP첨가군에서, Molt4세포에서는 10, 100 μ g/ml의 OGP첨가에 의해 각 세포의 아포토시스가 유의성있게 촉진되었다(Table 5).

7. 백혈병세포의 mitochondrial transmembrane potential($\Delta\Psi$ m)에 미치는 효과

세포사의 과정에서 mitochondria의 swelling이 일어나기 전 mitochondrial transmembrane potential($\Delta\Psi$ m)의 감소가 선행되어 일어나는가를 확인하고자 OGP를 처리해서 $\Delta\Psi$ m의 패턴을 검토한 결과, OGP의 농도의존적으로 $\Delta\Psi$ m가 감소하였다(Fig. 3).

Table 5. Effect of OGP on the apoptosis of L1210, Jurkat and Molt4 leukemia cells.

Treatment (μ g/ml)	Cell Type		
	L1210(%)	Jurkat(%)	Molt4(%)
CONTROL	18.9 \pm 1.7	17.5 \pm 1.9	15.6 \pm 1.4
OGP (0.1)	20.6 \pm 1.9	24.9 \pm 2.0	17.7 \pm 2.1
OGP (1.0)	24.7 \pm 2.5	30.8 \pm 2.7*	20.1 \pm 2.7
OGP (10)	28.2 \pm 3.1*	38.3 \pm 3.6**	23.5 \pm 2.4*
OGP (100)	34.2 \pm 3.5**	45.8 \pm 3.9**	34.7 \pm 3.1**

OGP(0.1~100 μ g/ml) was treated with cultured L1210, Jurkat or Molt4 cells, and incubated for 24 hours, and then cells were collected and the sub-G1 peak was measured by a flow cytometer staining with propidium iodide. The data represents the mean \pm SE of 3 experiments. *: Significantly different from control group(*p<0.05, **p<0.01).

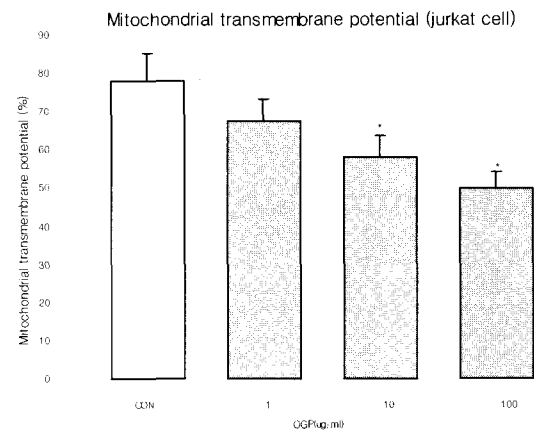


Fig. 3. Effect of OGP on the reduction of mitochondrial transmembrane potential($\Delta\Psi$ m) in cultured-Jurkat cell. OGP(1~100 μ g/ml) were treated with cultured Jurkat cells, and incubated for 24 hours, and then cells were collected and the $\Delta\Psi$ m was measured by a flow cytometer staining with DiOC6(40 nM). The data represents the mean \pm SE of 3 experiments. *: Significantly different from control group(*p<0.05).

8. RT-PCR에 의한 ICE, c-myc, p53 mRNA의 발현양상

Jurkat세포 배양계에 OGP를 처리해서 배양한 다음, RNA를 추출한 후 cDNA를 합성하여 PCR을 시행한 결과(Fig. 4), 대조군에 비하여 OGP처리군에서 아포토시스관련 유전자인 ICE, c-myc, p53의 mRNA 발현이 전반적으로 증가되었다.

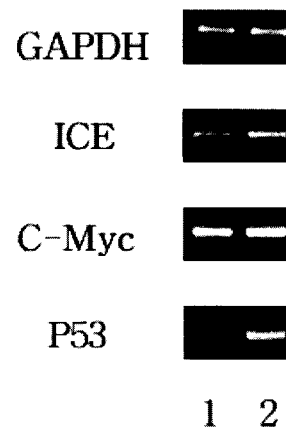


Fig. 4. Expression of apoptosis-related genes(ICE, c-myc, p53). Treatment of OGP(10 μ g/ml) for 24 hours leads to increase the expression of ICE and c-myc and p53 in Jurkat leukemia cells. Poly(A)⁺ RNA isolated from untreated cells(control; lane 1) and cells treated with 10 μ g/ml of OGP(lane 2) for 24 hours.

고 찰

생체방어체계에는 자연면역과 획득면역이 있으며 피부에 찰과상 등을 입으면 곧바로 백혈구 등이 활동하여 상처에 세균이 들어가지 못하게 하는 것이 자연면역이다. 그러나 보다 강력한 바이러스 등이 체내에 침입하면 자연 면역력으로는 방어할 수 없고 획득면역이 기능을 하는데 이 획득면역을 담당하고 있는 것이 임파구로서 세포성면역과 체액성면역의 두가지로 구분되며 특히 세포성면역은 백혈구가 체내로 침입해 들어 온 자기의 조직과 다른 것을 항원으로 인식하여 그것을 파괴하고, 소멸시키는 시스템이다. 체내로 들어 온 항원은 T임파구를 자극하여 활성화와 증식을 촉진하며 유도된 감작임파구는 재차 생체에 침입한 항원과 만나면 다양한 생리활성을 가지는 lymphokine을 분비하여 이 물질을 세포안으로 끌어 들이는 일을 하는 호중구나 단구를 국소에 집적시키도록 하는 등, 체액성면역의 주된 분자인 항체와는 별도의 면역력을 갖고 있다¹¹⁾.

본 연구에서는 오가피가 면역세포의 활성화에 미치는 효과를 살펴보고자 비장 및 흉선세포의 증식, 면역세포 아집단에 미치는 효과, 혈청 lymphokine생성 및 대식세포의 탐식활성 등을 관찰하였다. 오가피는 생쥐 비장 및 흉선임파구의 증식을 촉진하였으며 비장 및 흉선세포의 아집단 분석 결과, T임파구를 증가시켰으며 TH세포 및 Tc세포를 증가시키는 한편, 혈청 중 γ -interferon을 크게 항진시키는 작용을 가지고 있어서 면역력을 조절하는 것으로 사료된다. 또한 오가피는 대식세포의 탐식력을 유의성있게 촉진시켰는데 탐식활성은 lucigenin chemiluminescence로 측정하였으며 이것은 식작용이 진행되는 동안 ROS가 생성되어 발생하고 lucigenin에 의해 증가되는 것으로 알려져 있다⁶⁾. 대식세포는 임파구와 더불어 항원제공세포, 탐식작용, 불필요하게 된 세포의 제거¹²⁾등의 중요한 면역세포이다. 한편, 암세포에 대한 항암활성을 주로 암세포 배양계에서 아폽토시스실험으로 관찰하였다. 아폽토시스는 생체의 특히 신경계와 면역계세포의 생성, 분화 및 기능발현에 중요하게 작용하고 있는 능동적인 세포사의 개념¹³⁻¹⁶⁾으로서 아폽토시스기전에 이상이 발생하면 암, 자가면역 질환, 퇴행성질환 및 AIDS 등의 질환을 초래하는 결과로 이행된다. 각종 항암제들은 이러한 암세포의 아폽토시스를 유도하는 작용을 보유하는 것으로 잘 알려져 있다¹⁷⁾. 본 실험에서 암세포 배양계로 관찰한 결과, L1210세포와 Jurkat세포 및 Molt4세포 등의 백혈병세포의 아폽토시스를 다양하게 촉진시키는 작용을 가지고 있었으며 특히 Jurkat세포 배양계에서 아폽토시스관련 유전자인 ICE, c-myc, p53의 mRNA 발현이 전반적으로 증가하고 있음을 확인하였다.

결 론

오가피(OGP)의 면역계에 미치는 효과를 관찰한 결과, OGP는 *in vitro*계에서 생쥐 비장, 흉선세포 및 장간막 임파절세포의 생존율을 촉진시켰으며, *in vivo*실험에서 비장 내 T세포를 유의성있게 증가시켰는데 임파구 아집단분석 결과 비장의 TH세포 및

Tc세포와 흉선 중 Tc세포를 증가시켰다. OGP투여는 혈청 중 IFN- γ 생성을 촉진시켰으며 복강 대식세포의 탐식력을 촉진시켰다. 또한 OGP는 *in vitro*계에서 L1210세포, Jurkat세포 및 Molt4세포의 세포생존율을 감소시켰으며 상기 백혈병세포의 아폽토시스를 농도의존적으로 촉진시켰고 계대배양한 Jurkat세포의 mitochondrial transmembrane potential($\Delta\Psi_m$)을 감소시켰으며 아폽토시스관련 유전자인 ICE, c-myc, p53의 mRNA의 발현을 증가시켰다.

참고문헌

1. 한덕룡 : 오가피의 성분과 약효, 생약학회지, 10(3): 140-142, 1979.
2. Deyama, T., Nishibe, S. and Nakazawa, Y. : Constituents and pharmacological effects of Eucommis and Siberian ginseng, Acta. Pharmacol., 22, 1057-1070, 2001.
3. Mosmann, T. : Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application to proliferation and cytotoxic assays. J. Immunol. methods, 65: 55-63, 1983.
4. Shortman, K., Backson, H. : The differentiation of T lymphocytes, I, Proliferation kinetics and interrelationships of subpopulations of mouse thymus cells. Cell. Immunol., 12: 230-246, 1974.
5. Enavall, E., Perlmann, P. : Enzyme-linked immunosorbent assay III, Quantitation of specific antibodies of enzyme labelled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes. J. Immunol., 109: 129-135, 1972.
6. Nicoletti, I., Migliorati, G., Pagliacci, M.C., Grignani, G. and Riccardi, C.A. Rapid and simple method for measuring thymocyte apoptosis by propidium iodide staining and flow cytometry. J. Immunol. Methods, 139: 271-279, 1991.
7. Blair, A.L., Cree, I.A., Beck, J.S. and Hating, M.J.G. Measurement of phagocyte chemiluminescence in a microtiter plate format. J. Immunol. Methods, 112: 163, 1988.
8. Zamzami, N., Marchetti, P., Castedo, M., Zanin, C., Vayssiere, J.L. Petit, P.P.X. and Kroemer, G.: Reduction in mitochondrial potential constitutes an early irreversible step of programmed lymphocyte death in vivo. J. Exp. Med., 181, 1661-1672, 1995.
9. Enavall, E., Perlmann, P. : Enzyme-linked immunosorbent assay III, Quantitation of specific antibodies of enzyme labelled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes. J. Immunol., 109: 129-135, 1972.
10. Dowdy, S., Weardon, S. : Statistics for research. p 262, Wiley U.S.A, 1983.
11. Abbas, A.K., Lichman, A.H. and Poper, J.S., Cellular and molecular immunology. 2: 241-260, W.B. Saunders Co., U.S.A, 1994.

12. Boudard, F., Vallot, N., Cabaner, C and Bastide, M. : Chemiluminescence and nitrite determinations by the MALU macrophage cell line. *J. Immunol. Methods*, 174: 259-263, 1994.
13. Kerr, J.F.K., Wyllie, A.H. and Currie, A.H. : Apoptosis, a basic biological phenomenon with wider implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer*, 26: 239-245, 1972.
14. Willie, A.H., Kerr, J.F.R. and Currie, A.R., : The significance of apoptosis. *Int. Rev. Cytol.*, 68, 251-306, 1980.
15. Dive, C., Gregory, C.D., Phipps, D.J., Evans, D.L., Milner, A.E. and Wyllie, A.H. : Analysis and discrimination of necrosis and apoptosis (programmed cell death) by multiparameter flow cytometry. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1133: 275-285, 1992.
16. D'Amico, A.V., McKenna, W.G. : Apoptosis and a re-investigation of the biologic basis for cancer therapy. *Radiotherapy & Oncology*, 33(1): 3-10, 1994.
17. Suda, T., Nagata, S. : Purification and characterization of the Fas-ligand that induces apoptosis. *J. Exp. Med.*, 179: 873-879, 1994.