

## 홍삼 추출물이 이스라엘잉어의 면역반응에 미치는 영향

최민순<sup>†</sup> · 박성우 · 박관하  
군산대학교 해양과학대학 수산생명의학과

### Effect of Red ginseng extract on immune function of Isralei carp, *Cyprinus carpio*.

Min-Soon Choi<sup>†</sup>, Sung-Woo Park and Kwan-Ha Park

Department of Aqualife Medicine, Kunsan National Universit, Kunsan, 573-701, Korea

Israeli carps were intraperitoneally injected with an aqueous extract of red ginseng (RG) at five different concentrations (0, 1, 10, 25 and 50 mg/kg of body weight). The fish were sacrificed after 3 days and measured the neutrophil activity and plasma components. The activity of lysozyme, Ht, TIC and NBT reduction were significantly enhanced in the concentrations of more than 10 mg/kg. Further attempts were made to measure the effects of RG on leucocyte function at five different concentrations (1-100 µg/ml), *in vitro*. The proliferation of lymphocytes co-incubated with phytohaemagglutinin (PHA) and concanavalin A (Con A) was significantly increased at 10 µg/ml concentration, but suppressed at the highest concentration (100 µg/ml). RG alone or with lipopolysaccharide (LPS) had no effect on proliferation at any concentrations tested. Migration and reactive oxygen intermediates (ROI) production of leucocytes were enhanced in all concentration higher than 10 µg/ml. These results suggest that the RG activates the leucocyte function and may be able to be used as a stimulant of fish innate defences.

*Key words*; Red ginseng, Lymphocyte proliferation, Leucocyte function

최근에 국내외적으로 양식산업에 있어서 어류를 대상으로 식용 및 약용식물의 추출물을 투여하여 질병을 예방하려는 유용물질의 스크리닝 작업이 활발히 진행되고 있다 (Jung *et al.*, 2002; Choi *et al.*, 2002). 이들 생약제재의 장점은 항생제 투약시 내성균증가, 어체 면역능의 저하 및 어체내 약제 잔류등의 부작용등을 최소화 시킬 수 있을 뿐만 아니라 어체의 비특이적인 면역반응의 활성화를 통하여 질병발생을 억제시킴으로써 경제적 및 안전성 측면에서 효율성을 증가시킬 수 있다는 것이다 (Alderman, 1988; Lunden *et al.*, 2000; 2002; Jang *et al.*, 1995; Swicki *et al.*, 1994; Kim *et al.*, 1998).

인삼은 오가피 나무과 (Araliaceae)의 인삼속 (Panax)에 속하며, 가공방법에 따라서 수삼 (자연), 백삼 (건조) 및 홍삼 (증숙, 건조)으로 구분된다. 인삼의 성분구성함량은 탄수화물 60-70%, 질소화합물 (protein, peptide 및 amino acid) 12-16%, 인삼 saponin 3-6% 및 지용성 polyacetylene과 phenolic compounds 1-2% 성분 등을 함유하고 있으며, 이들 성분중 인삼 사포닌은 화학구조가 타 식물과 특이적으로 구별되어 ginsenoside라고 불린다 (Nam, 1998). 인삼의 약리작용기전중의 가장 특징적인 것은 외적 유해인자에 노출시 비특이적인 생체 저항력을 증진시켜며, 또한 생체를 정상적으로 환원적응화 (adaptaion) 시키는

<sup>†</sup>Corresponding Author : Min-Soon Choi, Tel : 063-469-1883,  
E-mail : Choims@kunsan.ac.kr

데에 탁월한 효과를 보인다 (Kim and Lee, 1989; Kwak *et al.*, 2000; Junda *et al.*, 1995; Song *et al.*, 1998).

그러나 인삼의 효과는 주로 포유류를 대상으로 연구가 수행되어졌으며, 어류에 대해서는 거의 연구가 이루어지지 않은 실정이다. 이에 본 실험에서는 홍삼추출물을 어류의 면역증강제로서의 이용가능성을 조사하기 위한 일환으로서 *in vitro* 및 *in vivo* 상에서 이스라엘 잉어의 면역반응에 미치는 영향에 대해 분석 하였다.

## 재료 및 방법

**이스라엘 잉어:** 인근 양어장으로부터 체중 약 100 g 정도의 어체를 구입하여서 1톤의 FRP 사육조에 순치 사육하였다. 이때, 수온은 25°C를 유지하면서, 시판 양어사료를 공급하고 가능한 스트레스를 받지 않도록 사육하였다.

**약제의 구입 및 제조:** 세포배양용 배지 및 plate는 Gibco사, 배지 및 시약들은 Sigma사 그리고 비색계는 ELISA reader (Titerstack Multiskan MCC/340 (Finland) 및 spectrophotometer (Shimatsu, Japan)를 이용하였다.

**홍삼처리:** 홍삼분말은 한국담배인삼공사로부터 구입하였으며, Hanks balanced salt solution (HBSS, Ca<sup>2+</sup> 및 Mg<sup>2+</sup> free)에 용해하여 사용하였다. 실험군은 홍삼농도 (0, 1, 10, 25 및 50 mg/kg)에 따라 5개군으로 나누어 복강내 주사하였다. 이때 각 군별로 5마리씩 이용하였다. 한편, *in vitro*의 경우는 다음 농도 (0, 1, 10, 50 및 100 µg/ml)로 처리하였다.

### A) 홍삼추출물이 어체의 활성능에 미치는 영향

**채혈:** 어체를 MS-222로 마취시킨 후에 헤파린을 (5000 IU, Sigma)처리한 주사기를 이용하여서 미정맥으로부터 채혈하였다. 그후 혈장성분을

회수하여 -80°C에 보존하여 사용하였다. 한편, Haematocrit (Ht)는 microhaematocrit법으로 측정하였다.

**탐식세포의 활성능 측정:** 탐식세포의 활성능 측정은 Nitroblue tetrazolium (NBT) reduction 방법에 준하여 측정하였다 (Rook *et al.*, 1985). 즉 채혈한 전혈과 0.1% NBT용액을 동량 (0.3 ml) 혼합하여 25°C에서 2 h 반응후 상층액을 제거하고 alcohol (100 및 70%)로 세정·건조한 후 2 M-KOH 120 µl와 DMSO 140 µl를 첨가하여서 620 nm에서 흡광도를 측정하였다.

**Lysozyme 측정:** Grinde (1989)의 방법에 준하였다. 즉 *Micrococcus lysodeicticus*를 0.02 M acetate buffer (pH 5.5)에 0.2 mg/ml 농도로 현탁하였다. 현탁액 900 µl 와 혈장 100 µl를 혼합하여 5분간 반응시킨 후 spectrophotometer (Shimatsu, Japan) 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 lysozyme 활성도는 1분에 0.001의 흡광도의 감소치를 1 unit로 하였다.

**Trypsin inhibition capacity (TIC):** TIC 측정은 Ellis (1990)의 방법에 준하였다. 즉 혈장을 trypsin (100 µg/ml) 용액과 동량 혼합한 후 0.1%-N-benzoil arginien-p-nitropanilide (Sigma)의 기질용액에 첨가하여 405 nm에서 흡광도를 측정 하였다. 이때 TIC의 활성도는 1분에 0.001의 흡광도 변화를 1unit로 하였다.

### B) In vitro에서 홍삼추출물이 백혈구의 활성능에 미치는 영향

**백혈구분리:** 세포는 Secombes (1990)의 방법에 준하여 분리하였다. 즉 어체를 MS-222로 마취시킨 후, Heparin (50 IU)처리한 주사기로 채혈한 말초혈액세포 및 신장유래의 백혈구를 불연속 밀도구배법 (Percoll: 34%/54%)에 의하여 분리하였다. 한편, 분리한 단핵세포는 1% FCS-

RPMI1640 배지에 부유하여 cultured dish (10×20 mm)에 25°C에서 1시간동안 부착시켜 림프구 및 대식세포를 각각 분리하였다. 한편 호중구는 혈액으로 분리된 백혈구를 이용하였다.

**림프구의 증식능 측정:** 림프구의 증식능은 MTT 방법으로 측정하였다 (Niks and Otto, 1990). 즉 림프구를 RPMI 1640에  $2 \times 10^6$  cells/ml로 부유하여 phytohaemagglutinin (PHA, 10  $\mu$ g/ml), concanavalin A (Con A, 10  $\mu$ g/ml) 및 lipopolysaccharide (LPS, 50  $\mu$ g/ml) 와 각 농도별 홍삼액을 96 plate의 각 well당 총량이 0.2 ml씩 되도록 조정하여 25°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에 넣어 72시간 배양하였으며, 반응중지 6시간 전에 MTT (mg/ml, Sigma)를 20  $\mu$ l씩 첨가후 상청액을 제거한 다음 DMSO와 glycin buffer를 각각 100  $\mu$ l 및 25  $\mu$ l씩 넣어 5-10분간 방치 후 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.

**대식세포의 Superoxide anion (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) 측정:** 외인성 O<sub>2</sub><sup>-</sup>는 Secombes (1990)의 방법에 준하였다. 즉, 신장유래의 대식구 ( $5 \times 10^6$  cells/ml) 및 각 농도별 홍삼액을 96 plate의 well당 100  $\mu$ l로 분주한 후 각 well에 PMA (10<sup>-6</sup> M)를 함유한 cytochrome C (3 mg/ml, Sigma)을 100  $\mu$ l 첨가하여 25°C에서 2 h 반응시키고 25  $\mu$ l의 N-dimethylamide (1mM, Sigma)을 첨가하여 반응을 중지시킨 후 원심 (150 g, 10분)하여 상청액을 550 nm에서 측정하였다. 이때 blank는 100  $\mu$ l의 Superoxide dismutase (3 mg/ml, Sigma)를 첨가하였다. 한편, 내인성 O<sub>2</sub><sup>-</sup>의 측정은 NBT법으로 측정하였다.

**백혈구의 hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 측정:** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>는 Phenol red reduction method로 측정하였다 (Babior *et al.*, 1973). 즉 말초혈액 유래의 백혈구 ( $5 \times 10^6$  cells/ml) 및 홍삼액을 96 well plate의 각 well당 100  $\mu$ l 분주한 후, 각각 60  $\mu$ l의 phenol red (1 mg/ml, Sigma), 20  $\mu$ l의 horseradish peroxidase (500  $\mu$ g/ml, Sigma) 및 phorbol myristate

acetate (PMA, 10<sup>-6</sup>M) 첨가하여 25°C에서 2 h 배양하고 25  $\mu$ l의 NaOH (3M)을 첨가하여 반응을 정지시킨 후 620 nm에서 측정하였다. 표준 곡선은 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>을 이용하여 산정하였다

**백혈구 유주능 측정:** Microcapillary tube법으로 측정하였다 (Bellina and Salerno, 1987). 즉 말초혈액 백혈구 ( $2 \times 10^8$  cells/ml)를 5% FCS-RPMI 1640 (Gibco)로 부유시킨 후 모세관에 흡입시켜서 한쪽 끝을 밀봉 하여 원심 (500 g, 10분)하였다. 그 후 세포의 경계면을 절단하여 세포 함유부를 cultured dish ( $\Phi$ , 40 mm)에 부착한 다음 1% FCS-RPMI 1640 및 각 농도별 홍삼액을 첨가하여 24시간 배양 (25°C, 5% CO<sub>2</sub>)하였다. 그 후 배양 상층액을 제거한 후 trypan blue로 염색하여 유주대를 측정하였다.

**통계학적 유의성 검정:** 대조구와 실험구 사이의 통계학적 유의성은 unpaired Student's *t*-test로 검정하여 대조구에 대한 *P* value로 나타내었으며, *p*<0.05 일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

## 결과 및 고찰

### 홍삼추출물이 림프구의 증식능에 미치는 영향

홍삼추출물이 림프구의 증식능에 미치는 영향을 평가하기 위해서 홍삼 단독 혹은 마이토젠과 혼합처리하여 증식능을 조사하였던 바 다양한 차이를 보였다. 즉 홍삼추출물 단독 및 LPS 혼합처리시는 대조군에 비해서 증식활성이 다소 증가되는 경향을 보였으나, 유의성이 인정되지는 않았다. 그렇지만, T-cell mitogen (PHA 및 Con A)와 혼합처리시 1 및 10  $\mu$ g/ml의 경우에는 증식능에 유의성 있는 증가를 보였으며, 특히 10  $\mu$ g/ml의 홍삼농도에서 각각 1.5-2.5배로 가장 증식활성능이 높게 나타났다 (Fig. 1). 이러한 결과들은 어류에 있어서도 포유류와 마찬가지로 IL-2에 대한 수용체가 존재한다는 점 (Grondel and Harnsen, 1984) 및 사람에게 있어서, 홍삼의 total

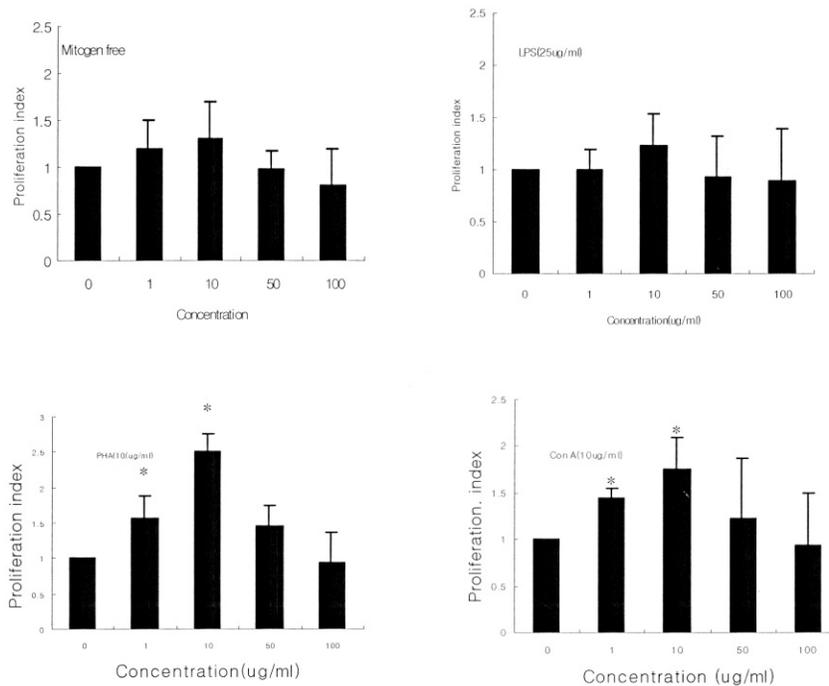


Fig. 1. Effects of red ginseng extract on the proliferation of head kidney lymphocytes. The cells ( $2 \times 10^6$  cells/ml) were cultured in 5% FCS-RPMI medium containing at various concentrations (1-100  $\mu\text{g/ml}$ ) of red ginseng extract and mitogen (Con A and PHA: 10  $\mu\text{g/ml}$ , and LPS: 25  $\mu\text{g/ml}$ ) for 72 h. Proliferation was measured by the colorimetric method with MTT. Results are normalized to the values compared to control and expressed as mean  $\pm$  S.E. of control. \* :  $p < 0.05$ , with student's *t*-test.

saponin, 당단백 및 ginsenoside 등이 손상되었거나 노화된 림프구에 있어서 세포표면의 IL-2 수용체의 분화 및 발현기능의 복원력 활성을 증강시킨다는 보고등 (Wu *et al.*, 1991; Junda *et al.*, 1995)과 부분적으로 일치되어지는 것으로써, 홍삼 추출물이 T-cell 표면의 IL-2의 수용체 변조에 따른 세포증식의 후기단계로의 유도를 증폭시켜서 결과적으로 T-cell의 발육 및 증식을 지속적으로 증가시켰을 것으로 사료된다.

한편, 홍삼의 다당체 및 단백질 성분 (10 kDa) 등이 T-helper 및 cytotoxic T세포 등의 특정 아군에 대해서 표면 항원구조와 수용체 등의 세포막 유동성을 변화시켜서 증식능 및 기능활성을 촉진시켰다는 보고 (Lee and Lee, 1998)로 미루어 홍삼 추출물을 면역보조제로서 활용시 봄철 및 고수온기에 다발하는 각종 잉어의 바이러스 질병

의 예방 및 치료를 위한 어체의 면역증강작용의 효과가 기대되어진다. 그렇지만, 본 실험에서 비교적 고농도 (50 및 100  $\mu\text{g/ml}$ )의 홍삼추출물의 처리시는 증식활성이 인정되지 않은 결과 (Fig. 1)로 미루어 볼때 양어장의 현장적용을 위해서는 적정농도의 선정을 위한 선행실험이 필요하리라 사료된다.

#### 홍삼추출물이 대식세포의 활성화에 미치는 영향

홍삼추출물이 신장유래 대식세포의 superoxide ( $\text{O}_2^-$ )의 생성능에 미치는 영향을 조사하였던 바 Fig. 2와 같다. 즉 홍삼추출물 처리시 대식세포의 외인성 superoxide ( $\text{O}_2^-$ )의 생성은 10  $\mu\text{g/ml}$  이상의 농도에서 유의성 있게 증가되었으나, 50 및 100  $\mu\text{g/ml}$ 의 홍삼처리 군과는 큰 차이를 보이지 않았다. 그렇지만, 내인성 superoxide ( $\text{O}_2^-$ )의

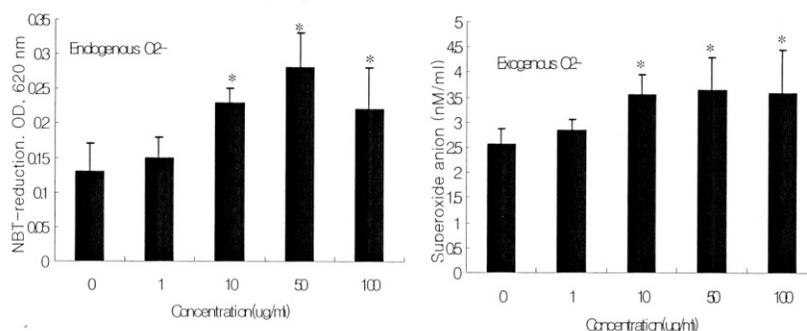


Fig. 2. Effects of red ginseng extract on respiratory burst activity. Head kidney macrophages were incubated with varying dose of RG containing PMA for 2 h. Endogenous and exogenous superoxide anion production were measured by colorimetric method with NBT and ferricytochrome C. Results were expressed as O.D. 630 nm and nM per macrophages ( $5 \times 10^6$  cells), respectively and as means  $\pm$  SE., \* :  $P < 0.05$ , with student's *t*-test.

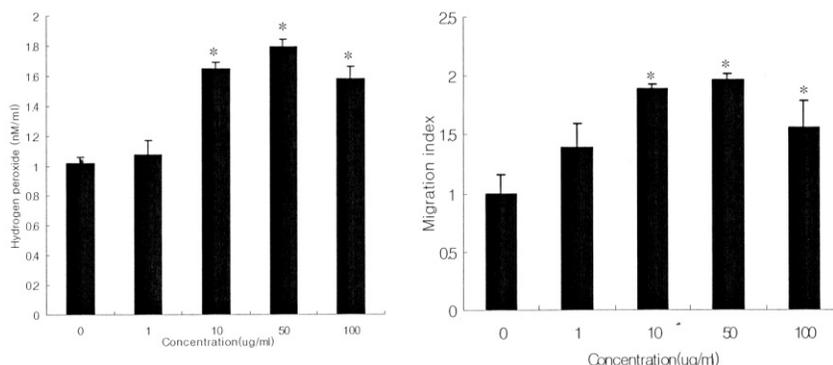


Fig. 3. Effect of red ginseng extract on the blood leukocyte function. The hydrogen peroxide was measured spectrophotometrically at O.D 630 nm with phenol red reduction and expressed as nmol  $H_2O_2$  per cells ( $5 \times 10^6$  cells). Random migration was tested using microcapillary method. The distance were measured 10X microscope after incubation for 24 h at  $25^\circ C$ . Results were expressed as means  $\pm$  S.E % of control. \* :  $P < 0.05$ , with student's *t*-test.

생성에는 50  $\mu g/ml$  농도군에서 활성이 높게 나타났다. 이러한 결과들은 홍삼 추출물이 마우스의 복강대식세포의 탐식능 및 반응기산소의 생성능 및 cytokine의 발현 등의 대식세포의 다양한 생리활성을 증강시켰다는 보고 (Bae, 1977)와 일치되었다.

한편, 어체내 내재하는 병원미생물은 감염초기에 어체의 대식세포의 탐식작용을 회피할 수 있을 뿐만 아니라, 대식세포를 탈활성화시키는 인자의 방출을 유도하여서 살균작용에 주요하게 관여하는 superoxide ( $O_2^-$ )의 생산을 억제시켜서 세포내에 지속적으로 감염이 발현되어진다.

그러므로 세포내재성 병원체를 효율적으로 제거하기 위해서는, 대식세포의 lectin-like 수용체의 자극을 통해서 휴지기 및 탈활성된 대식세포의 활성 유도가 중요하다고 하였다 (Stahl, 1992; Secombes, 1996). 따라서, 본 실험에서 홍삼추출물 처리시 대식세포의 superoxide ( $O_2^-$ )의 생성을 활성화시킨 결과로 미루어 향후 홍삼추출물의 처리시 대식세포의 superoxide ( $O_2^-$ )생성 유도를 통한 보균어의 확산억제에 효과적인 것으로 사료된다.

홍삼추출물이 다형핵백혈구의 활성에 미치는 영향

홍삼추출물이 다형핵백혈구의 활성능에 미치는 영향을 측정하기 위하여 혈중 백혈구의 hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ )의 생성능 및 유주능을 조사 하였던 바 Fig. 3과 같다. 즉 홍삼추출물의 저농도 ( $1 \mu\text{g/ml}$ )경우는 다형핵백혈구의  $H_2O_2$ 의 생성능 및 유주능 등에는 별 영향을 미치지 않았으나,  $10 \mu\text{g/ml}$  이상의 농도에서는 유의성을 보였으며, 특히  $50 \mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 활성이 높게 나타났다. 이러한 결과들은 포유류에서 홍삼 처리시 다형핵 백혈구의 주화성 및  $H_2O_2$ 의 생성을 증가시켰다는 결과 (Hu *et al.* 1995)와 일치되어진다. 한편, 다형핵백혈구는 대식구보다 빠른 주화성을 보이며, 막 수용체를 자극하는 주화성 인자의 노출시 신속한 유주능을 보여서 맥관의 확장 및 투과성의 증진을 통한 급성기 염증반응

이 유도되어진다 (Czop and Kay, 1991). 따라서, 향후 홍삼추출물의 단독 혹은 세균백신제재와 병합처리는 국소적인 감염인자의 방어에 주요한 역할을 수행하는 비특이적인 면역보조제로서 이용할 수 있을 것으로 사료된다.

#### 홍삼추출물의 어체내 투여시 활성에 미치는 영향

홍삼추출물을 농도별 ( $1, 10, 25$  및  $50 \text{ mg/kg}$ )로 어체의 복강내에 주사하여 3일 후 혈액성상의 특성을 조사하였던 바 그 결과는 Fig. 4와 같다. 즉 대조군에 비해 처리군 ( $10-50 \mu\text{g/mg}$ )에서 Ht 및 NBT reduction 뿐만 아니라, 혈장내의 lysozyme 및 TIC 등을 유의성 있게 증가된 결과 들은 홍삼 처리시 탐식세포의 활성 (주화성 및  $H_2O_2$ ) 및 체액성 (albumin 및  $\beta$ -globulin)인자의

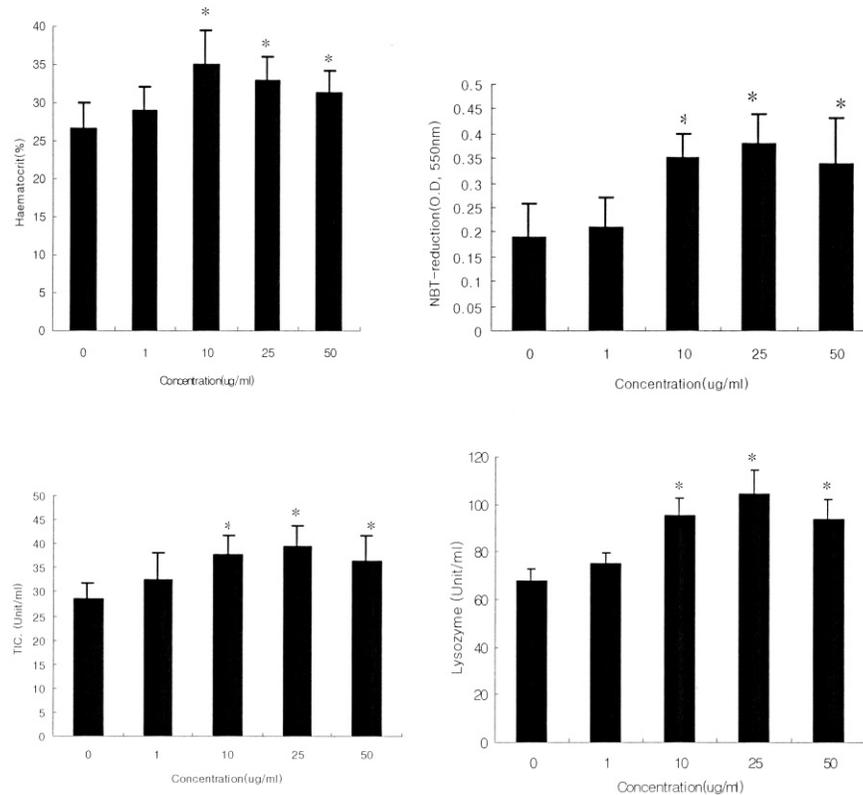


Fig. 4. Evaluation of clinical parameters from Israeli carp treated with red ginseng at various concentrations ( $1-50 \mu\text{g/kg}$ ) *in vivo*. Ht was tested by microcapillary method. NBT reduction, TIC and lysozyme were measured using the colorimetric assay and expressed as O.D at 450 nm and at 550 nm, respectively. One unit was defined the decrease in absorbance of 0.001/min. Results were expressed as means  $\pm$  S.E % of control. \* :  $P < 0.05$ , with student's *t*-test

생성을 증가시킨 보고들 (Oura *et al.*, 1975; Kim and Jung, 1987; Song *et al.*, 1998)과 일맥상통되어 졌다. 한편, 홍삼추출물을 경구적으로 투여시 조 직내로 흡수가 빠르게 진행되며, 생체의 복원력 향상이 우수하다는 보고 등 (Kim and Lee, 1989; Mijuno *et al.*, 1994; Junda *et al.*, 1995)으로 미루어 특히 봄철에 다발하는 각종 질병의 예방 및 확산방지에 크게 기여할 수 있으리라 사료된다.

이상의 결과를 요약하면, 홍삼추출물이 림프구 및 탐식세포들에 대해서 직간접적으로 활성을 유도하였으며, 특히 탐식세포의 산소의존성 및 비의존성 효소계의 활성을 증가시켰다. 이러한 결과들로 미루어 볼 때 홍삼추출물이 면역증강 또는 보조제로서 유효하게 이용될 수 있을 것으로 사료된다. 그렇지만, 홍삼추출물을 면역증강제로서 대단위의 양식장에서 활용하기 위해서는 향후 어체에 경구적으로 투여 후 병원미생물의 대한 생체방어능에 대한 실험이 필요하리라 사료되어진다.

## 요 약

홍삼추출물을 다양한 농도 (1-50 mg/kg)로 어체의 복강내에 주입하여 3일 후 어체를 희생시켜서 Ht, lysozyme, TIC 및 NBT reduction을 측정 한 바, 10  $\mu\text{g}/\text{mg}$  이상의 처리군에 유의성 있는 증가를 보였다. 한편, *in vitro*에서 홍삼 추출물을 처리시 림프구의 증식능에 미치는 영향은 PHA 혹은 Con A와 혼합처리 경우에는 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도에서 가장 높은 증가를 보였으나, 고농도 (100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )에서는 억제되었다. 그렇지만, RGE 단독 혹은 LPS혼합 처리군에서는 증가효과가 유의성 있게 나타나지 않았다. 한편, 백혈구의 유주능 및 발생기산소 (ROI)의 생성은 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  이상의 처리군에서 유의성 있는 증가를 보였다. 이러한 결과는 홍삼추출물을 복강내로 처리시 림프구의 증식 및 탐식세포의 기능을 증가시키는 것을 알 수 있었으며, 향후 면역보조제로 사용하기 위해서는 경구투여에 따른 실험이 수행되어야 할

것으로 사료된다.

## 감사의 글

이 논문은 2005년도 군산대학교 수산과학연구소의 연구비 지원에 의해서 수행 되었습니다.

## 참 고 문 헌

- Alderman, D. J.: Fisheries chemotherapy: a review, In "recent advances in aquaculture" (ed by Muir, J. M. and Roberts, R. J.) Croom Helm. London, Vol. 3: 1-61. 1988.
- Babior, B. M., Kipnes, R. S. and Curnutte, J.: Biological defence mechanism: the production by leucocytes of superoxide, a potential bactericidal agent. J. Clin. Invest., 2: 741-752, 1973.
- Bae, J. H.: Effect of white ginseng on the function of mouse peritoneal macrophages and their gene expression. J. Korean SOC. Food Sci. Nutr., 26(6): 1252-1257, 1997.
- Bellina, L. and Salerno, A.: Chicken buffy coat leukocyte as indicator cells for human leukocyte migration inhibitory factor. J. Immunol. Methods, 43: 227-238, 1987.
- Choi, M. S., Kim, Y. H. and Jang, C. C.: Effect of red ginseng extracts on the immune response in mouse. J. Basic life Res. Sci., 2(2): 47-58, 2002.
- Czop, J. K. and Kay, J.: Isolation and characterization of  $\beta$ -glucan receptors on human mononuclear phagocytes. The J. Exper. Med., 173: 1511-20, 1991.
- Ellis, A. E: Serum antiproteases in fish. Technique in fish immunology. SOS publications. pp. 95-99, 1990.
- Grinde, B.: Lysozyme from rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, as an antibacterial

- agent against fish pathogens. *J. Fish Dis.*, 12: 95-104, 1989.
- Grondel, J. L. and Harnsen, G. M.: Phylogeny of interleukins: growth factors produced by leucocytes of the cyprinid fish, *Cyprinus carpio* L. *Immunology*, 52: 447-482, 1984.
- Hu, S. C., Concha R., Cooray, A. and Homberg, O.: Ginseng enhanced oxidative and phagocytic activities of polymorphonuclear leucocytes from bovine peripheral blood and stripping milk. *Vet. Res.*, 26: 155-161, 1995.
- Jang, S. I., Marsden, M. J., Kim, Y. G., Choi, M. S. and Secombes, C. J.: The effect of glycyrrhizin on rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), leucocytes response. *J. Fish Dis.*, 18: 307-315, 1995.
- Junda, L., Wang, S., Hongtao, L., Liping, Y. and Guozhu, N.: Stimulatory effect of saponin from panax ginseng on immune function of lymphocytes in the elderly. *Mechanism of aging and development*, 83: 43-53, 1995.
- Jung, S. H., Lee, J. S., Han, H. K., Jun, C. Y. and Lee H. Y.: Effects of medical herb extract on non specific immune response, haematology and disease resistance on *Olive flounder*, *Paralichthys olivaceus* by oral administration. *J. F. Pathol.*, 15(1): 25-35, 2002.
- Kim, H. S. and Lee, M. K.: Effects of ginsenoides on the development of morphine-induced tolerance and physical dependence in mice. *Kor. J. pharmacol.*, 20(2): 123-127, 1989.
- Kim, M. J. and Jung, N. P.: The effect of Ginseng saponin on the mouse immune system. *K. J. Ginseng Sci.*, 11(2): 130-137, 1987.
- Kim, K. H., Lee, I. R., Jung, I. S., Chung, H. Y. and Yun, Y. S.: The pattern cytokine mRNA expression induced by polysaccharide from panax ginseng C. A. Mayer, 22(4): 324-342, 1998.
- Kwak, Y. S., Wee, J. J., Hwang, S. Y., Kyung, J. S., Nam, K. Y. and Kim, S. K.: Effect of crude saponin from korean red ginseng on clinical chemical parameters of ovariectomized rat. *K. J. Ginseng Sci.*, 24(1): 46-54, 2000.
- Lee, H. Y. and Lee, H. S.: Stimulatory effect of korean red-ginseng extract on the proliferation and cellular activity of lymphocytes. *Kor. J. Ginwng Sci.*, 22(2): 132-141, 1998.
- Lunden, T. and Bylund, G.: The influence of in vitro and in vivo exposure to antibiotics on mitogen-induced proliferation of lymphoid cells in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immunol.*, 10: 395-404, 2000.
- Lunden, T. Lilibus, E. M. and Bylund, G.: Respiratory burst activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) phagocytes in modulated by antimicrobial drugs. *Aquaculture*, 207: 203-212, 2002.
- 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. Biophysic. Res. Commun.*, 200: 1672-1678, 1994.
- Nam, K. Y., Ko, S. R. and Choi, K. J.: Relationship of saponin and non-saponin for the quality of ginseng., 22(4): 274-283, 1998.
- Niks, M. and Otto, M.: Towards an optimized MTT assay. *J. Immunol. Methods*, 130: 149-155, 1990.
- Oura, H., Hia, S., Okada, Y. and Yokozawa, T.: Studies on the biochemical action of ginseng saponin. Purification from ginseng extract of the active component stimulating serum protein biosynthesis. *J. Biochem.*, 77: 1057-1063, 1975.
- Rook, G. A. W., Steele, J., Umar, S. and Dockrell,

- H. M.: A simple method for the solubilization of reduced NBT, and its use as a colorimetric assay for activation of human macrophages by gamma interferon. *J. Immunol. Method.*, 82: 161-167, 1985.
- Secombes, C. J.: Isolation of salmonid macrophages and analysis of their killing activity. In techniques in fish immunology. Vol.1 (ed by), SOS Pub. Fair Haven, NJ. 137-154, 1990.
- Secombes, C. J.: The nonspecific immune system: Cellular defences In: Iwama, G., Nakanish, T. (eds). The fish immune system: Organism, pathogens, environment. Academic Press. USA. pp. 63-103, 1996.
- Song, Z., Arsalan, K., Hong, W., Viggo, F., Claus, M., Helle, K. J., Jorgen R. and Niels H.: Effects of ginseng treatment on neutrophil chemiluminescence and immunoglobulin G subclasses in a rat model of chronic *Pseudomonas aeruginosa* Pneumonia. *Clinical and Diagnostic Lab. immunology*, 5(6): 882-887, 1998.
- Stahl, P. D.: The mannose receptor and other macrophages lectins. *Current opinion in immunology*, 4: 49-52, 1992.
- Swicki, A. K., Anderson, D. P. and Rumsey, G. L.: Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protein against frunculosis. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 41: 125-139, 1994.
- Wu, S., Jua, Z. J., Xiao, Y. L., Wang, Y., Zhag, J., Zhag, H. Y. and Du W. Y.: Effect of ginsenosoplypeptide on the 3H-TdR integration human blood lymphocytes. *Chin Med J*, 104(5): 399-401, 1991.

---

Manuscript Received : June 14, 2005

Revision Accepted : November 15, 2005

Responsible Editorial Member : Myung-Joo Oh  
(Yosu Univ.)