

제호탕의 장내 세균 및 면역 활성에 미치는 연구

지명순·박민정¹·이미영¹·김종근²·고병섭^{1,*}

우송정보대학 외식조리과, ¹한국한의학연구원 검사사업부, ²세종대학교 외식조리과

Effect of Jehotang Extract on the Growth of Intestinal Bacteria and Immunostimulation

Myoung-Soon Ji, Min-Jung Park¹, Mi-Young Lee¹, Jong-Goon Kim², and Byoung-Seob Ko^{1,*}

¹Department of Culinary Arts, Woosong Information College

¹Department of Quality Control of Herbal Medicine, Korea Institute of Oriental Medicine

²Department of Foodservice and Management, Sejong University

Abstract Water extracts of Jehotang were evaluated for their growth-promoting effects on *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus* sp., *L. acidophilus*, and *Clostridium perfringens*. Addition of Jehotang water extract to modified EG media at 0.1 mg/mL increased growths of *B. longum*, *Lactobacillus* sp., and *L. acidophilus*, with 1.8-fold increase in growth of *L. acidophilus* compared to that of control. Studies on these strains by agar diffusion method showed *Lactobacillus* sp. and *L. acidophilus* were activated by addition of Jehotang extract at 10 mg/disc. Proliferation responses of mice splenocytes and Peyer's patch cells to ConA by LPS-stimulation at 500 mg/kg B.W./day Jehotang extract were investigated *in vitro*. Upon treatment of 1 mg/mL Jehotang water extract to mice, proliferations of splenocytes and Peyer's patch cells increased 1.4- and 1.6-fold compared to control, respectively. In mice administered Jehotang extract, production of intestinal secretory IgA (sIgA) increased 2.4-fold compared to control. These results indicate water extract of Jehotang stimulated intestinal immune system of mice. In mice treated with Jehotang extract, production of lymphocytes was 4% lower, whereas those of granulocytes and platelets were 4% and slightly higher than control, respectively.

Key words: Jehotang, intestinal bacteria, bifidobacteria, *lactobacillus*, immunostimulation, splenocytes, Peyer's patch

서 론

제호탕은 한국 고유의 전통음료로 동의보감(1)과 방약합편 등에 ‘더위를 풀어주고 가슴이 답답하고 목이 마른 것을 그치게 해주며 위를 튼튼하게 하고 장의 기능을 조절하여 설사를 멎추게 하는 효능이 있어 단옷날에 이를 음용하면 여름을 잘 날 수 있다’고 하였다.

제호탕의 주재료인 오매육(*Fructus mume*)은 매화나무의 미성숙한 과실로 항산화와 항암 효과가 있는 것으로 알려져 있으며 (2,3), 백단향(*Santalum album L.*)이나 공사인(*Fructus amomi*), 그리고 초과(*Fructus tsaoko*)는 모두 강한 향기를 가지고 있는 방향성 약제로 기의 소통을 좋게 해주고 위장기능을 개선시키는 작용이 있다. 특히 사인의 경우 견위작용이 뛰어나서 한방에서는 소화력을 올려주고 식욕을 증진시킬 목적으로 상당히 많이 쓰여지고 있는 약제이다.

장내 세균총들은 장관에 증식함으로서 세균 상호간의 경쟁적 억제에 의해 유해 미생물의 증식을 억제하거나, 균종 간의 공생

관계에 의하여 세균총의 균형을 정상적으로 유지하고 있다(4). 대표적인 장내 유익균인 *Bifidobacterium* sp.와 *Lactobacillus* sp.(5)는 유산균의 증식, 장내 유해미생물의 억제(6-9), 정장 작용, 장내 연동운동 촉진등의 유용성이 있으며, 반면에 유해성 미생물인 *Clostridium*과 *E. coli*는 각종 부패성 물질과 독소 및 발암물질 등을 생산하여 질병 유발, 암 발생과 면역력 감퇴 등을 가져온다(10-12). 또한 *Lactobacillus*와 *Bifidobacterium* 균주 등의 세포벽 glycopeptide 성분은 macrophage의 활성화와 B 입파세포의 활성화 등을 통하여 면역 활성을 증가하는 것으로 보고되고 있다(13,14). 이러한 장내세균총의 항원이 장관 면역을 주도하는 Peyer's patch의 B 세포의 분화를 자극해서 항원에 대한 특이항체생산세포의 증식을 가져온다고 알려져 있다.

이러한 장내 세균총에서 유익균의 생육을 촉진시킬 수 있는 식품소재의 탐색에 대한 연구 등이 활발하게 이루어지고 있다(15-17). 그러나 문헌상 장의 기능을 조절한다고 알려진 제호탕의 연구는 일반성분에 대한 일부 연구만(18,19) 진행되었을 뿐 효능을 입증할 과학적인 연구가 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구는 제호탕이 장내 유익균의 생육에 미치는 영향과 장내 대표적인 유해균의 생육을 저해시켜 장내 환경을 개선시킬 수 있는 효능을 *in vitro* 실험을 통해 관찰하고 면역 활성에 미치는 영향을 조사하였다. 또한 마우스를 통한 *in vivo* 실험으로 장관 면역 반응에 따른 장내 분비 IgA 생성량과 혈액 성분의 변화를 관찰하여 한국 고유의 전통음료의 기능성을 과학적으로 입증하고 대중화하는데 기초자료를 제공하고자 하였다.

*Corresponding author: Byoung-Seob Ko, Department of Quality Control of Herbal Medicine, Korea Institute of Oriental Medicine, Yusung, Daejeon 461-24, Korea

Tel: 82-42-868-9542

Fax: 82-42-863-9434

E-mail: bsko@kiom.re.kr

Received August 3, 2005; accepted November 13, 2005

재료 및 방법

제호탕의 열수추출

제호탕의 제조는 오매육 600 g은 굽게 갈고 초과 37.5 g, 백단향 18.72 g, 공사인 18.7 g을 곱게 간 다음 열수 추출기에서 1시간 추출한 후 여과하고, 잔사에 증류수를 가해 2회 반복 열수 추출하였다. 제호탕 열수 추출물은 여과지로 여과하여 이를 감압 증류장치로 농축한 후 동결 건조기(일신, 한국)를 이용하여 완전 건조하였다. 동결 건조된 제호탕 열수 추출물을 실험에 필요한 농도가 되도록 조정하여 멸균된 증류수에 완전히 녹인 후 여과하여 사용하였다.

사용균주 및 사용배지

본 실험에 사용한 균주는 장내 유익균의 지표로 *Bifidobacterium longum* ATCC 15707, *Lactobacillus* sp. KCTC 3930, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356와 유해균의 지표로 *Clostridium perfringens* ATCC 13124를 사용하였다. 균주들은 Reinforced Clostridial Media(RCM, Oxoid LTD., England) 배지에서 37°C 혐기적 조건(BBL GasPak, Becton Dickinson and Company, USA)으로 활성화시켜 사용하였다. 본 연구의 세포배양 실험에 사용한 배지는 RPMI medium 1640(GIBCO, USA)에 sodium bicarbonate(NaHCO₃, 2 g/L), 10% 우태아 혈청(Fetal bovine serum; GIBCO, USA), 100 U/mL penicillin(GIBCO, USA), 100 µg/mL streptomycin(GIBCO, USA)을 첨가하였다.

액체 배양에 의한 장내 세균의 활성 측정

제호탕 열수 추출물이 장내 세균의 생육에 미치는 영향을 조사하기 위해 Modified EG(Eggerth Gagnon)(20) 액체배지(Table 1)를 사용하였다. 제호탕을 동결건조시켜 만든 추출물을 0.1, 1, 10 mg/mL 농도로 첨가한 Modified EG broth에 활성화 시킨 각 균의 전배양액을 접종하여 혐기적으로 37°C에서 18시간 배양하면서 600 nm에서 O.D.(optical density)을 측정하여 균의 생육상태를 조사하였다.

Agar diffusion method에 장내 세균의 활성 측정

제호탕 열수 추출물이 장내 세균의 생육에 미치는 영향을 관찰하기 위해 고체배지인 EG 한천배지를 멸균한 후 50°C로 식힌 다음 4종의 균주를 1% 되도록 배지를 조제하고 직경 6 mm disc paper(Toyo Roshi Kaisha Ltd., Tokyo, Japan)에 0.1, 1, 10 mg 농도가 되도록 추출시료를 적하였다. 이 배지를 혐기적 조건으로 37°C에서 48시간 배양한 다음 생육 활성화와 생육 저해환의 크기를 관찰하였다.

Table 1. The composition of modified EG broth

Components	Amount
Beef extract	2.0 g
Proteose peptone No. 3	10.0 g
Yeast extract	5.0 g
Na ₂ HPO ₄	4.0 g
Soluble starch	0.5 g
Glucose	1.5 g
L-cysteine	0.4 g
Silicon antifoamer	0.25 mL
Tween 80	0.5 g
D.W.	1,000 mL

In vitro의 면역세포 증식능 측정

제호탕 열수추출물이 비장의 면역세포와 장내 면역반응을 주도하는 Peyer's patch 세포증식능에 미치는 영향을 조사하기 위해, 생후 6주령의 ICR계 마우스로부터 비장과 십이지장에서부터 회장까지 분리하였다. 제거한 비장을 4°C RPMI-1640로 세척한 다음 cell dissociator sieve-tissue grinder kit(Sigma, USA)로 조직을 잘게 으깬 후, 비장세포를 수거하고 HBSS(GIBCO, USA)로 3회 세척한다. 세척한 cell pellet을 Red blood cell lysing buffer(Sigma, USA)에 1분간 혼탁시켜 적혈구를 제거하였다. Peyer's patch 세포의 분리는 장기에서 분리한 Peyer's patch 조직을 cell dissociator sieve-tissue grinder kit(Sigma, USA)로 잘게 으깬 후, 세포를 수거하여 HBSS로 3회 세척한다. 비장세포와 Peyer's patch 세포의 증식효과를 측정하기 위해 세포는 96 well plate에 2×10³ cells/well의 농도로 맞춰 분주하고, 세포의 mitogen으로 T cell stimulator와 B cell stimulator인 Concanavalin A(ConA)와 Lipopolysaccharide(LPS) 각각을 1 µg/mL과 10 µg/mL 농도로 처리한다. 제호탕 열수 추출물을 농도별로 처리한 후 72시간 동안 배양한 후 종료하기 4시간전에 MTT 용액을 첨가하여 반응시킨다. 반응 종료를 위해 산성 isopropanol을 넣어 보라색 결정체가 완전히 용해될 때까지 혼합한 후 570 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 세포활성을 관찰하였다.

제호탕 열수추출물의 경구투여

생후 6주령의 ICR계 마우스 수컷 5마리씩을 제호탕 열수 추출물을 투여한 시험군과 대조군으로 나누어 실험을 실시하였다. 시험군은 제호탕 열수 추출물을 생리식염수에 용해하여 0.45 µm membrane filter로 여과한 다음 500 mg/kg/day을 경구로 15일간 투여하였고, 대조군은 동량의 생리식염수를 15일간 경구 투여하였다.

장내 분비 Immunoglobulin A(sIgA) 변화량 측정(21,22)

ICR계 마우스의 십이지장에서 맹장까지를 절개하고, 양쪽 끝 부분을 봉합 후 PBS로 장기표면을 세척한다. 제조한 lavage solution(Table 2)을 장기내부로 주입하여 실온에서 10분간 경과시킨 후 장기 내용물을 압착하여 4°C에서 원심분리(700×g, 10분)를 실시하였다. 분리한 상층액에 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride(PMSF)을 첨가하여 원심분리(13,000 rpm, 15분) 한 후, 상층액을 수거하여 1 mM PMSF를 첨가하고 열음속에 15분간 경과 후 3.5% γ-globulin free bovine serum albumin을 첨가하여 원심분리를 실시하였다. 분리된 장내 시료의 정량적 IgA를 측정하기 위해 Enzyme-linked Immunosorbent Assays(ELISA) 실시하였다. 96 well plate에 capture antibody로 Anti-mouse IgA mAb(BD biosciences, USA)를 4°C 16시간 동안 coating하고, 1% bovine serum albumine이 포함된 PBS로 실온에서 1시간 blocking을 실시하였다. Tween 20 0.05% 포함된 PBS (PBST)로 3회 세척한 다음 장내 시료를 1% bovine serum albumine이 포함된 PBST에 희석하였다.

Table 2. The composition of lavage solution

NaCl	25 mM
Na ₂ SO ₄	110 mM
KCl	10 mM+-
NaHCO	20 mM
EDTA	20 mM
Soybean trypsin inhibitor	0.1 mg/mL
Polyethylene glycol (MW 4,000)	162 mg/mL
DW	100 mL

석하여 실온에서 1시간 방치하고 PBST로 4회 세척한 다음 biotinylated anti-mouse IgA(BD biosciences, USA)를 2 µg/mL로 처리하여 실온에서 1시간 후, PBST로 5회 세척한 다음 Stepravidin-HRP(BD biosciences, USA)를 1,000배 희석하여 실온에서 30분간 반응시킨다. 반응 후에 PBST로 5회 세척한 다음 0.1 M anhydrous citric acid와 2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)-diammonium salt(Sigma, USA)가 포함된 ABTS substrate 용액(pH 4.35)을 well에 100 µL 첨가하고 실온에서 30분간 반응 후에 반응을 정지시키기 위해 Dimethylformamide(Sigma, USA)와 Sodium dodecyl sulfate(Sigma, USA)가 각각 50과 20% 포함된 ABTS stopping 용액 50 µL을 첨가하고 microplate reader을 이용하여 405 nm에서 측정하였다.

혈액학적 성분 변화 측정

제호탕 열수추출물의 경구투여에 따른 혈액학적 성분 변화를 관찰하기 위해, 제호탕 열수추출물을 15일간 투여한 후에 마우스를 치사시켜 전혈을 항응고제가 처리된 BD Vacutainer(BD biosciences, USA)에 채혈하여 자동혈구 계산기(COLUTER JT, USA)을 이용하여 혈액학적 검사를 실시하였다.

결과 및 고찰

액체배양에 의한 장내세균의 활성 효과

제호탕 열수 추출물에 대한 장내 세균의 활성 효과를 측정하기 위해 Modified EG 액체배지에 제호탕 열수 추출물을 농도별로 처리한 결과를 Table 3에 나타내었다. 제호탕 열수 추출물을 0.1 mg/mL로 처리한 결과, 장내 유익균인 *B. longum*, *Lactobacillus* sp.와 *L. acidophilus* 균주의 생육이 1.6배 이상 상승하였고 *C. perfringens*의 생육도 1.15배 상승하였다. 제호탕 열수 추출물의 농도를 1 mg/mL로 처리시에 유익균인 *B. longum*, *Lactobacillus* sp.와 *L. acidophilus* 균주의 생육이 대조군에 비해 1.2-1.5배 상승하였다. 특히, 제호탕 열수 추출물은 대조군에 비해 *Lactobacillus* sp.와 *L. acidophilus* 균주의 성장을 최대 1.8배 증가시키는 것으로 나타났다. 쑥의 물분획물(23), 인삼의 물추출물과 메탄올추출 그리고 녹차의 메탄올 추출물(24,25)은 *Bifidobacterium* sp.의 생육을 촉진시키고 *C. perfringens*의 생육은 억제시켜 선택적으로 장내 미생물 균종의 생육에 영향을 끼친다는 연구가 보고되었다. 본 연구에서 제호탕 열수 추출물은 장내 미생물 균종에 따른 선택적인 생육에 미치는 영향이 뚜렷하게 나타나지는 않았지만, 특히 *Lactobacillus* 균주의 생육을 촉진하는 효과를 관찰할 수 있었다.

Agar diffusion method에 의한 장내세균의 활성 효과

제호탕 열수 추출물에 대한 장내 세균의 활성 효과를 고체배

Table 3. Effect of Jehotang extract on growth of intestinal bacteria by modified EG broth

Strain	Concentration (mg/mL)		
	0.1	1	10
<i>B. longum</i>	1.638 ¹⁾	1.267	0.693
<i>C. perfringens</i>	1.157	1.057	0.637
<i>Lactobacillus</i> sp.	1.62	1.507	1.029
<i>L. acidophilus</i>	1.883	1.448	1.047

¹⁾O.D. value for sample/O.D. value for control.

Table 4. Effect of the Jehotang extract on growth of intestinal bacteria by agar diffusion method

Strain	Concentration (mg/mL)		
	0.1	1	10
<i>B. longum</i>	n ¹⁾	n	-
<i>C. perfringens</i>	n	n	-
<i>Lactobacillus</i> sp.	n	+	+
<i>L. acidophilus</i>	+	++	+++

¹⁾n: no effect, +: promoted zone diameter 10-14 mm, ++: promoted zone diameter 15-19 mm, +++: promoted zone diameter 20-24 mm, -: inhibitory zone diameter 10-14 mm.

지로 확인하기 위해 EG 배지를 사용하여 추출물을 농도별로 적하하여 관찰하였다(Table 4). 장내 유익균인 *Lactobacillus* sp. 와 *L. acidophilus* 균주의 생육을 관찰한 결과, 제호탕 열수 추출물의 농도를 1 mg/mL과 10 mg/mL로 처리하였을 때 최소 직경 12 mm에서 최대 24 mm 활성화를 관찰하였다. 제호탕 열수추출물은 EG 배지에서 *B. longum* 균주와 *C. perfringens* 균주의 생육에는 영향을 끼치지 않았고, 제호탕 열수 추출물의 농도를 10 mg/mL로 처리했을 때 생육 저해효과를 관찰할 수 있었다. 이것은 제호탕 열수 추출물이 *B. longum*과 장내 유해균인 *C. perfringens* 균주의 생육보다는 *Lactobacillus* sp.의 생육 활성에 영향을 미치는 것으로 추정된다. 이상의 결과는 제호탕 열수 추출물이 *Lactobacillus*의 생육촉진 인자를 포함할 수 있다는 것을 제시하여 준다. *Lactobacillus* 및 *Bifidobacteria*의 생육을 촉진시켜 장내균총의 균형을 이루게 하여 유해가스 생성을 억제하는 것으로써 플락토리고당, 키톤리고당 및 쇠이섬유(26,27) 등이 알려져 있어 제호탕 열수추출물의 성분분석을 통해 보고된 젖산균의 생육인자와의 관련성을 탐색할 수 있을 것이다.

In vitro의 면역세포 증식능 효과

제호탕 열수 추출물의 비장과 Peyer's patch의 면역세포 증식능을 관찰하기 위해, 제호탕 열수 추출물의 농도를 0.01, 0.1, 1 mg/mL의 농도로 첨가하고 mitogen으로 ConA와 LPS를 각각 1, 10 µg/mL로 첨가하여 배양하였다. 그 결과, 비장세포와 Peyer's patch 세포의 증식능은 대조군으로 배양액만을 넣은 흡광도를 100%로 하여 비교하였다. 비장세포의 면역 증식능을 관찰한 결과, 제호탕 열수추출물의 농도를 1 mg/mL로 처리하였을 때 제호탕 열수 추출물만 첨가한 경우와 ConA와 LPS를 첨가해서 테양한 경우에 대조군에 비해 1.3에서 1.4배 상승하였다(Fig. 1). Peyer's patch 세포의 면역 증식능을 관찰한 결과, 제호탕 열수 추출물의 농도를 1 mg/mL로 처리하였을 때 대조군에 비해 1.6배 상승하였고 mitogen의 첨가유무에 따른 큰 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 2). 제호탕 열수추출물은 비장의 면역세포보다 장에 존재하여 장관 면역을 담당하고 있는 Peyer's patch 세포의 증식을 활발히 촉진시켜 전체 면역을 활성화시킬 것으로 사료된다. 제호탕 열수 추출물이 비장과 Peyer's patch의 면역세포 증식능에 미치는 영향을 관찰한 결과, 대조군에 비해 농도의존적으로 면역세포의 증식능이 상승하는것으로 나타났다. 장관 내에 있는 Peyer's patch의 림프구들은 M cell에 의해 섭취된 항원과 반응하여 활성화된 후, 림프소질의 germinal center에서 분화하고 성숙하게 되며, 장으로부터 빠르게 이동하여 체내를 순환하게 된다(28). 따라서, 제호탕 열수 추출물은 장관 면역계를 활성화시켜 전신 면역계를 활성화시키는 것으로 사료된다.

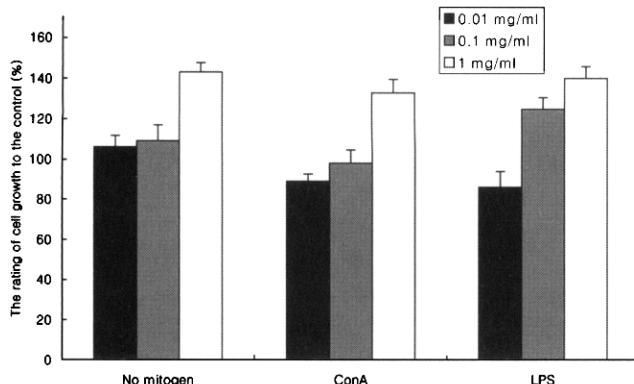


Fig. 1. The effect of Jehotang extract on the proliferation of mice splenocytes. Spleen cells (2×10^5 cells/well) of mouse were cultured medium without mitogen or with ConA (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) and LPS (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$). The concentration of the water extract from Jehotang was used 0.01, 0.1, and 1 mg per mL, respectively. After 72 hr incubation, the proliferation was measured by MTT assay. Bars stand for mean \pm SD.

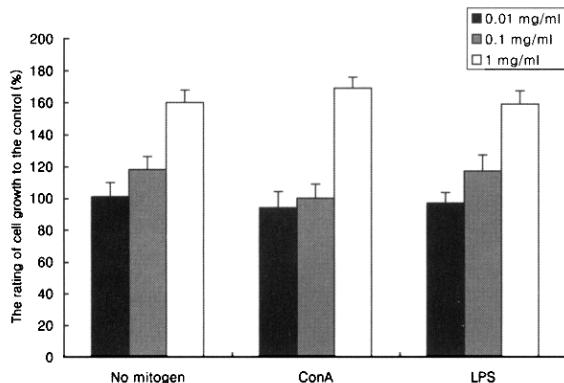


Fig. 2. The effect of Jehotang extract on the proliferation of mice Peyer's patch cells. Peyer's patch cells (2×10^5 cells/well) of mouse were cultured medium without mitogen or with ConA (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) and LPS (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$). The concentration of the water extract from Jehotang was used 0.01, 0.1, and 1 mg per mL, respectively. After 72 hr incubation, the proliferation was measured by MTT assay. Bars stand for mean \pm SD.

장내 분비 IgA(sIgA)의 변화 측정

장내 분비 IgA는 미생물의 점막상피에의 부착을 억제하고, 여러 가지 bacteria 또는 virus에 대한 항체활성이 있는 것으로 알려져 있어 점막 표면의 면역 반응에 중요하다(28). 따라서 장내 분비 IgA의 생성량은 장내 면역반응의 중요한 지표로 볼 수 있어, 제호탕 열수 추출물을 마우스에 경구투여한 후 장내 분비 IgA의 양을 관찰하였다. 그 결과, 제호탕 열수 추출물을 투여하였을 때 대조군에 비해 평균적으로 sIgA 양이 2.4배 상승하였고, 최대 3배까지 증가하였다(Fig. 3). 이것은 제호탕 열수 추출물이 장내 면역 활성을 촉진하여 sIgA 분비량을 증가시켰을 것으로 추측된다.

혈액학적 변화

제호탕 열수 추출물이 혈액의 성분에 변화에 미치는 영향을 관찰하기 위해 제호탕 열수 추출물을 마우스에 경구투여 한 후 전혈하여 자동혈구 계산기로 실험을 실시하였다. 제호탕 열수 추출물을 투여한 군의 혈액 성분 중 lymphocytes는 대조군에 비해 4%

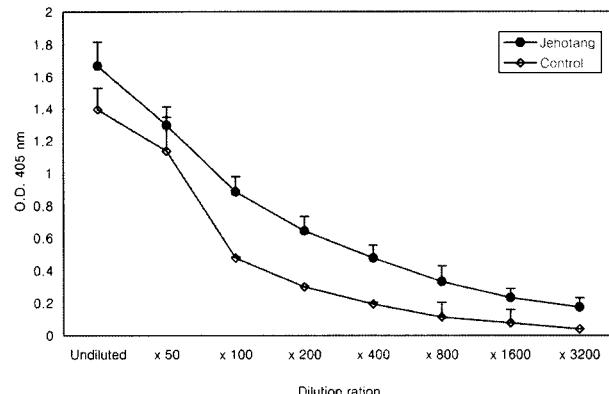


Fig. 3. The effect of Jehotang extract on the secretion of intestinal secretory IgA (sIgA). After oral administration of Jehotang extract, the titers of intestinal secretory IgA purified from mouse intestine was determined by ELISA. Bars stand for mean \pm SD.

Table 5. The effect of Jehotang extract on the change of hemocyte in vivo

Parameter	Unit	Control	Jehotang
Body wt. ¹⁾	g	$38.49 \pm 2.36^{2)}$	37.15 ± 0.31
WBC	$10^3 \text{ cells}/\mu\text{l}$	2.77 ± 0.83	2.26 ± 0.09
LY	%	71.77 ± 6.73	67.51 ± 6.31
MO	%	9.83 ± 3.85	9.98 ± 1.03
GR	%	18.40 ± 5.45	22.52 ± 7.33
LY#	$10^3 \text{ cells}/\mu\text{l}$	2.00 ± 0.65	1.49 ± 0.20
MO#	$10^3 \text{ cells}/\mu\text{l}$	0.28 ± 0.12	0.23 ± 0.05
GR#	$10^3 \text{ cells}/\mu\text{l}$	0.48 ± 0.22	0.52 ± 0.12
RBC	$10^6 \text{ cells}/\mu\text{l}$	6.18 ± 0.94	6.22 ± 0.39
HGB	g/dL	10.13 ± 1.57	9.50 ± 1.70
HCT	%	31.57 ± 4.81	32.43 ± 1.59
MCV	fL	51.11 ± 1.43	52.18 ± 0.60
MCH	pg	16.39 ± 0.31	15.33 ± 1.65
MCHC	g/dL	32.06 ± 0.71	29.36 ± 3.52
RDW	%	16.54 ± 0.68	15.61 ± 0.65
PLT	$10^3 \text{ cells}/\mu\text{l}$	88.00 ± 21.46	101.75 ± 22.27
MPV	fL	4.24 ± 0.37	4.16 ± 0.15

¹⁾Body wt.: body weight, WBC: white blood cell, LY: lymphocytes, MO: mononuclear cell, GR: granulocytes, LY#: lymphocytes, MO#: mononuclear cell, GR#: granulocytes cell, RBC: red blood cell, HGB: hemoglobin, HCT: hematocrit, MCV: mean corpuscular (erythrocyte) volume, MCH: mean corpuscular (erythrocyte) hemoglobin, MCHC: mean corpuscular (erythrocyte) hemoglobin concentration, RDW: red cell (erythrocyte volume) distribution width, PLT: platelet, MPV: mean platelet volume

²⁾Data values are mean \pm SD.

감소하였고 granulocytes는 4% 증가함을 보였다. 또한 제호탕 열수 추출물을 투여한 결과, platelet¹⁾ 대조군에 비해 증가함을 나타냈고 다른 혈액 성분들의 변화는 관찰되지 않았다(Table 5). 이러한 결과는 제호탕 열수 추출물이 혈액 성분 중 일부 초기 면역반응에 관련하는 granulocytes에 영향을 끼친 것으로 추측된다.

요약

한국의 전통 음료인 제호탕의 장내 개선 효능을 조사하기 위해 제호탕 열수 추출물을 Modified EG 액체배지에 처리하고 장

내 균총 중 대표적인 유익균인 *B. longum*, *Lactobacillus* sp.와 *L. acidophilus*, *C. perfringens* 균주를 접종하여 생육 활성을 관찰하였다. 그 결과, 제호탕 열수 추출물의 농도를 0.1 mg/mL로 처리시에 *B. longum*과 *Lactobacillus* 균주의 생육 효과가 우수하였다. 특히 제호탕 열수 추출물은 대조군에 비해 *L. acidophilus* 균주의 생육을 최대 1.8배 상승시켜 젖산균의 생육인자를 함유할 것으로 추정된다. 장내 세균의 활성 효과를 한천배지상에서 재확인한 결과, *Lactobacillus* sp.와 *L. acidophilus* 균주는 제호탕 열수 추출물의 농도를 10 mg/disc로 실시하였을 때 직경 12 mm와 24 mm의 높은 생육 활성화를 나타내었다. *In vitro*에서 제호탕 열수 추출물이 비장과 Peyer's patch 면역세포 증식능에 미치는 영향을 관찰한 결과, 제호탕 열수 추출물의 농도를 1 mg/mL로 처리하였을 때 대조군에 비해 비장세포는 1.4배, Peyer's patch 세포는 1.6배 상승하여 비장세포보다 장관 면역을 담당하는 Peyer's patch 세포의 증식을 촉진시켰다. 제호탕 열수 추출물의 섭취에 따른 장내 분비 IgA 양은 대조군에 비해 평균적으로 2.4배 증가하여 제호탕 열수 추출물이 장내 면역을 활성화시키는 것으로 사료된다. 제호탕 열수 추출물을 경구투여한 후 혈액성분을 관찰한 결과, 대조군에 비해 lymphocytes는 4% 감소한 반면에 granulocytes는 4% 증가했고 platelet이 상승했으며 다른 혈액 성분 변화를 관찰되지 않았다. 향후 제호탕 열수 추출물이 *in vivo*에서 관찰된 면역 세포의 변화에 관한 연구가 진행되어져야 할 것이다.

문 헌

- Huh, J (1596) translated by Kim YH. Dong-Eui-Bo-Gam. Nam-San-Dang, Seoul, Korea pp. 604-611 (1991)
- Chun OK, Kim DO, Moon HY, Kang HG, Lee CY. Contribution of individual polyphenolics to total antioxidant capacity of plums. *J. Agric. Food Chem.* 51: 7240-7245 (2003)
- Shen H, Cheng T, Qiao C, Su Z, Li C. Antitumor effect *in vitro* and immuno-response *in vivo* of Fructus mume. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* 20: 365-368 (1995)
- Fuller R. Probiotics. The scientific basis. Chapman and Hall, London pp. 355-376 (1992)
- Sandine WE. Role of *Lactobacillus* in the intestinal tract. *J. Food Prot.* 42: 259-262 (1979)
- Stamer JR. The lactic acid bacteria: Microbes of diversity. *Food Technol.* 33: 63-70 (1979)
- Collins EB, Aramaki K. Production hydrogen peroxide by *Lactobacillus acidophilus*. *J. Dairy Sci.* 63: 353-357 (1980)
- Kim DH, Han MJ. Inhibition of intestinal bacterial enzymes by lactic acid bacteria. *J. Pharm. Soc. Korea* 39: 169-174 (1995)
- Drago L, Gismondo MR, Lombardi A, de Haén C, Gozzini L. Inhibition of *in vitro* growth of enteropathogens by new *Lactobacillus* isolates of human intestinal origin. *FEMS Microbiol. Lett.* 153: 455-463 (1997)
- Mitsuoka T. Recent trends in research on intestinal flora. *Bifido-*

- bacteria Microflora 4: 3-24 (1982)
- Macfarlane GT, Cummings JH, Allison C. Protein degradation by human intestinal bacteria. *J. Gen. Microbiol.* 132: 1647-1656 (1986)
 - Cummings JH, Macfarlane GT. A review. The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *J. Appl. Bacteriol.* 70: 443-459 (1991)
 - Pederson G, Alvarez S, Macias MEND, Roux ME, de Ruiz Holgado AP. The oral administration of lactic acid bacteria increase the mucosal intestinal immunity to enteropathogens. *J. Food Prot.* 53: 404-410 (1990)
 - Hatcher GE, Lambrecht RS. Augmentation of macrophage phagocytic activity by cell-free extracts of selected lactic acid-producing bacteria. *J. Dairy Sci.* 76: 2485-2492 (1993)
 - Park JH, Han NS, Yoo JY, Kwon DJ, Shin HK, Koo YJ. Screening of the foodstuffs influencing the growth of *Bifidobacterium* spp. and *Clostridium perfringens*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 25: 582-588 (1993)
 - Kim CG, Kim SI, Shin HK. Effect of fructooligosaccharide-inulin of Jerusalem artichoke on the growth of intestinal microorganisms of pig. *Korean J. Food Sci. Technol.* 25: 395-399 (1993)
 - Han BJ, Shin SH, Shin HK. Effects of edible herbs on the growth of *in vitro* intestinal microorganisms. *Korean J. Nutr.* 27: 717-728 (1994)
 - Yun SJ, Jo HJ. Studies on nutritional compositions of the jehotang. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 25: 649-653 (1996)
 - Yun SJ, Jo HJ. Studies on nutritional compositions of the jehotang. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 25: 654-658 (1996)
 - Mitsuoka T. A Color Atlas of Anaerobic Bacteria. Sobunsha, Japan. 53-65 (1980)
 - Charles O, Ealding W, Lefkowitz J. A lavage technique allowing repeated measurement of IgA antibody in mouse intestinal secretions. *J. Immunol. Method* 67: 101-108 (1984)
 - Chae OH, Shin KS, Chung HK, Choe TB. Immunostimulation effects of mice fed with cell lysate of *lactobacillus plantarum* isolated from kimchi. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 13: 424-430 (1998)
 - Lee SH, Shin HK. Effect of the fractionated extracts of mugwort on the *in vitro* growth of some intestinal microorganisms. *Korean J. Nutr.* 28: 1065-1072 (1995)
 - Ahn YJ, Sakanaka S, Kim MJ, Kawamura T, Fujisawa T, Mitsuoka T. Effect of green tea extract on growth of intestinal bacteria. *Microb. Ecol. Health Disease* 3: 335-338 (1990)
 - Ahn YY, Kim MJ, Yamamoto T, Fujisawa T, Mitsuoka T. Selective growth response of human intestinal bacteria to Araliaceae extracts. *Microb. Ecol. Health Disease* 3: 223-230 (1990)
 - Hidaka H, Hirayama M, Yamada K. Fructooligosaccharides: enzymatic preparation and biofunctions. *J. Carbohydr. Chem.* 10: 509-522 (1991)
 - Roberfroid M. Dietary fiber, inulin and oligofructose: A review comparing their physiological effects. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 33: 103-148 (1993)
 - James SP, Zeitz M. Human gastrointestinal mucosal T cells. In: *Handbook of Mucosal Immunology*. Academic Press. London. UK pp. 275-285 (1994)