韓國營養學會誌 2007; 40(7): 624~629

2주 동안의 톳 추출물 투여가 마우스의 비장세포와 Cytokine (IL-1β, IL-6, TNF-α)의 생성량에 미치는 영향

류혜숙* · 정윤희** · 김현숙**§

상지대학교 보건과학대학 식품영양학과,* 숙명여자대학교 생활과학대학 식품영양학과**

Effect of *Hizikia Fusiforme* Water Extracts on Mouse Immune Cell Activation

Ryu, Hye Sook* · Jung, Yun Hee · Kim, Hyun Sook**§**

Department of Food and Nutrition, College of Health Sciences, Sangji University, Wonju 220-702, Korea*
*Major in Food and Nutrition,** College of Life Science, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea*

ABSTRACT

Hizikia fusiforme (*sea weed fusiforme*) has long been used for food source in this country. This study was performed to evalute the immunomodulative effects of *Hizikia fusiforme* (*sea weed fusiforme*) in mouse, using in vivo experiments. In vivo experiment, different concentration (0, 50, 500 mg/kg B.W.) of *Hizikia fusiforme* water extracts were orally administrated into mouse every other day for two weeks. The proliferation of mouse splenocytes, the production of three cytokines (IL-1β, IL-6, TNF-α) secreted by activated macrophage. Splenocyte proliferation was enhanced in mouse orally administrated with 50 mg/kg B.W. and 500 mg/kg B.W. concentration compared to that of control group. Especially, the highest proliferation of spleoncyte was seen from the mouse orally administrated at the concentration of 50 mg/kg B.W. Also, the mouse of *Hizikia fusiforme* water extracts supplementation group in the both concentrations showed enhanced levels of cytokine production by activated peritoneal macrophages compared to those in control group. The highest level of cytokine (IL-1β, IL-6, TNF-α) production was observed at 50 mg/kg B.W. supplementation group with LPS stimulation in all cases. (*Korean J Nutr* 2007; 40(7): 624~629)

KEY WORDS: *Hizikia fusiforme* extracts, immunomodulative, splenocytes proliferation, IL-1β, IL-6, TNF-α.

서 론

식품 중에 존재하는 각종 성분들이 영양적인 역할 외에 여러 생리작용에 다양하게 작용할 수 있다는 연구들이 보고되면서 식품의 기능을 단순한 영양소 공급에서 더 나아가 특정 생리기능의 증진 효과로 보는 관점이 증대되고 있다.[1-2] 이러한 추세에 부응하여 천연 식물 자원을 대상으로 노화방지 성인병 예방, 면역증강효과 등에 대한 연구가 항체 생성 및 항산화 효과와 같은 각종 생리활성을 나타내는 물질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.[3-5] 최근에는 육상생물에 비해 연구가 많이 이루어지지 않았던 해양생물에 관심이 높아지면서 해양동물, 해조류, 해양미생물 등에서의 생리활성물질에 관한 연구가 진행되고 있다.[6-7] 해조류에 대한 연구는 일본과 한국에서 활발하며, 해조류에 다량으로 함유되어 있는 점질성 다당류들은 그 특성이 독특하여 생리활성이 강한물질로 알려져 있어 해조류로부터의 생리활성물질 확인 및 기능성 식품 개발에 관심이 모아지고 있다.[8-11] 톳 (*Hisikia fusiforme*)은 갈조식물 (*Phaeophta*) 모자반과의 바닷말로 우리나라의 서해안, 남해안 및 제주도에 서식하는 천연자원식물이다. 톳에 대한 연구는 항균성 효과,[12] 항응고 활성,[13-14] 지방대사에 관한 연구가 있고 최근에는 생체 내 항고지혈증[15] 및 항산화효과,[16-18] 항암[19-20]에 대한 연구가 이루어지고 있다. 항산화 에 대한 한 연구에서 일본산 톳을 이용한 DPPH 라디칼 소거능 실험의 결과 톳의 활성이 65%로 우수하여 톳이 뛰어난 항산화 활성 해조류임이 보고되었다.[21] 이와 같이 톳의 생리활성 기능에 대한 연구를 보면 대부분이 항균, 항산화, 항암에 관한 연구이고 면역능 조절에 대한 연구는 부족한 상태이다.

따라서 본 연구에서는 천연자원 식용 해조류인 톳의 면

접수일 : 2007년 8월 6일
채택일 : 2007년 10월 17일
§To whom correspondence should be addressed.
E-mail : rhs7420@hanmail.net

© 2007 The Korean Nutrition Society

역 증강효과의 가능성을 알아보고자 다음과 같은 연구를 수행하였다.

Ex vivo 실험에서 톳을 물 추출하여 실험동물에 2주간 직접 경구 투여함으로서 이들 시료가 마우스 생체 내에서 면역능에 미치는 영향을 관찰하고자 하였다. 2주간 격일로 톳 추출물을 경구 투여한 마우스의 비장세포 증식능, 활성 복강대식세포에서 분비되는 사이토카인 (IL-1β, IL-6, TNF-α) 생성량의 변화를 측정하여 톳 추출물이 마우스 면역능에 미치는 영향을 연구하고자 하였다.

재료 및 방법

시료추출 및 실험동물

톳 추출물은 Fig. 1의 방법으로 제조하였다. 동결 건조된 시료를 증류수 또는 에탄올로 환류 냉각시키면서 80℃ 수욕상에서 3시간씩 3회 반복 추출한 후 감압 농축하여 물 추출물과 에탄올 추출물을 얻었다. 이중에서 일반적으로 먹는 형태인 물 추출물을 경구 투여 시료로 이용하였다.

본 연구에 사용된 동물은 7~8주령된 암컷 Balb/c mouse를 (주)대한실험동물센터로부터 분양받아 고형 사료와 물을 자유로이 공급하면서 7~8일 정도 실험 동물실에서 적응시킨 후 체중이 15 g 내외인 마우스를 실험에 사용하였다. 실험 동물실 온도는 22 ± 2℃, 습도는 40~60%로 유지하였고, 명암주기 (Light and dark cycle)는 12시간 단위로 조절하였다.

시약 및 배지

본 연구에 사용된 배지는 RPMI medium 1640의 GIBCO BRL (Grand Island, NY, USA) 제품을 사용하였고, fetal bovine serum (FBS), lipopolysaccharide (LPS), concanavalin A (ConA), thioglycollate, sodium bicarbonate, ammonium chloride, TRIZMA® base, TRIZMA® hydrochloride, trypan blue solution (0.4%), DMSO (dimethyl sulfide), 3- (4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) 등의 시약은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였다.

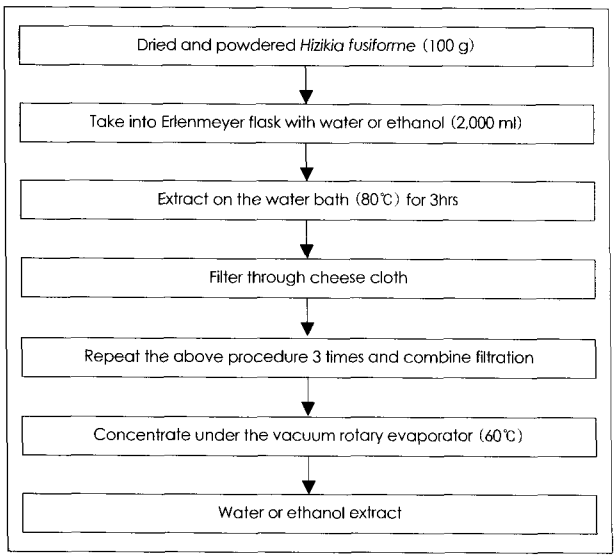

Fig. 1. Flow diagram for water or ethanol extraction procedure.

마우스 비장세포의 분리 및 배양

마우스 비장세포의 분리는 Mishell 등[22]의 방법에 의해 실행하였다. 경추 탈골법으로 희생시킨 마우스의 비장을 무균적으로 적출하여 RPMI 1640 용액으로 씻은 다음 멸균 유리봉으로 가볍게 분쇄하여 세포를 유리시켰다. 분리된 세포 현탁액을 200 mesh stainless steel sieve (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)에 통과시킨 후 50 ml의 원심관에 넣고 4℃, 3,000 rpm에서 10분간 원침시킨 후 cell pellet을 lysing buffer (Tris-buffered ammonium chloride; 0.87% NH_4Cl, pH 7.2)에 5분간 현탁시켜 적혈구를 제거하였다. 위의 세포는 다시 RPMI로 2회 원심 세척한 다음, 10%-FBS RPMI 1640으로 5.0×10^6 cell/ml의 농도로 희석하여 96-well plate에 90 μl씩 분주한 후 세포 증식능 측정에 사용하였다.

비장세포 증식능 측정

각 군별로 마우스 비장세포 현탁액을 5.0×10^6 cell/ml이 되도록 희석하여 96 well plate의 각 well에 90 μl씩 분주하고 각 군당 mitogen으로 ConA (5 μg/ml), LPS (15 μg/ml)를 10 μl씩 분주하고 대조군에는 배지를 동량으로 분주하였다. 각 plate는 37℃, 5% CO_2 incubator (Sanyo)에서 44시간 배양하여 MTT assay를 실시하였다. 배양후 MTT를 10 μl 가하고, 알루미늄 호일로 빛을 차단한 상태에서 4시간 동안 다시 배양한 후 formazan crystal 형성을 유도하였다. 4℃, 1500 rpm에서 5분간 원심 분리하여 상층액을 제거하고 각 well에 150 μl의 DMSO를 가하여 10분간 방치한 후 ELISA reader를 이용하여 540 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.[23] 마우스 비장세포의 증식능은 다음의 공식에 의해 계산되었다.

Proliferation Index = Sample의 흡광도 / Control의 흡광도

사이토카인 (IL-1β, IL-6, TNF-α) 분비능 측정

톳 추출물을 경구 투여한 마우스의 복강 내 대식세포를 추출하여 배양시킨 다음 배양 상층액으로부터 분비되는 사

이토카인 (IL-1β, IL-6, TNF-α) 분비량을 각각 측정하였다. 비부착성 세포를 제거하고 부착성 세포만을 얻은 후, 10%-FBS RPMI 1640 900 μl와 대식세포를 활성화시키는 mitogen인 LPS와 배지를 100 μl 가한 후 37℃, 5% CO_2 incubator (Sanyo)에서 48시간 배양하였다. 배양 상층액을 분리하여 배양액에 축적된 IL-1β, IL-6, TNF-α의 양을 ELISA 사이토카인 kit (R&D system, USA)를 이용하여 측정하였다.[23]

통계분석

모든 실험결과의 자료는 SAS (Statistic Analysis System) 통계 프로그램을 이용하여 평균 및 표준편차를 구하였다. 각 군간의 평균치의 차이는 분산분석 (Analysis of Variance, ANOVA)및 Duncan's multiple range test를 사용하여 $\alpha = 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

톳 추출물의 경구투여가 마우스 면역기능에 미치는 영향

톳 추출물의 경구투여가 마우스 비장세포 증식능, 복강 대식세포에서 분비하는 사이토카인 (IL-1β, IL-6, TNF-α) 생성량에 어떠한 영향을 미치는지 관찰함으로써 생체 내에서 톳 추출물의 면역활성 효과의 가능성을 확인하고자 하였다.

톳 물 추출물의 경구투여가 마우스 비장세포 증식능에 미치는 영향

식이 섭취가 생체 내 미치는 영향을 알아보기 위해 식이를 섭취한 실험 동물의 장기로부터 세포 증식능이나 채혈을 통한 효소활성능 등이 면역지표로서 사용되고 있다.[24-26] 본 실험에서는 톳 추출물의 경구투여가 마우스 비장세포 증식능에 미치는 영향을 검색하기 위한 지표로 MTT assay를 이용하여 비장세포 증식능을 측정하였고, 이는 세포증식능 측정 도구로서 가장 적합한 3H-thymidine uptake의 결과와 비교적 유사한 것으로 보고되고 있다.[27-29] 그 결과는 Table 1, 2에 나타내었다. 톳 추출물을 2주 투여한 경우 500 mg/kg B.W.과 50 mg/kg B.W. 투여군 모두 1.51 ± 0.06~2.65 ± 0.21로 대조군 보다 유의적으로 높은 증식능을 보였으며 특히 50 mg/kg B.W. 투여군에서 가장 높은 증식능을 보였다. 동일한 시료를 통한 비교가 아닌 제한점이 있지만 다른 비장세포 증식능 연구에 따르면 생강물 추출물을 4주 투여한 경우 50 mg/kg B.W./day과 500 mg/kg B.W./day 투여군에서 1.52 ± 0.68 and 2.40 ± 0.71로 대조군에 비해 증식능 증가를 나타낸 보고가 있다.[30] 다시마 섭취가 흰쥐의 비장세포 증식능에 미치는 영향 연구에서도 다시마가 비장능을 증식시키는 것으로 보고하였다.[31] Mitogen에 대한 반응을 보면, 세포성 면역과 관련 있는 T세포를 선택적으로 증식시키는 mitogen인 Con A 첨가 시 2주 투여한 경우 500 mg/kg B.W.과 50 mg/kg B.W. 투여군에서 4.34 ± 0.16~5.53 ± 0.10으로 대조군에 비해 유의적으로 높은 증식능을 보였고 50 mg/kg b.w. 투여군에서 가장 높은 증식능을 보였다. 체액성 면역과 관련이 있는 B세포를 선택적으로 증식시키는 mitogen인 LPS 첨가시 50 mg/kg B.W./day와 500 mg/kg B.W./day 투여군에서 대조군 보다 높은 증식능을 보였으나 유의적인 차이는 보이지 않았다.

Table 1. Spleen index of mice orally administered with different levels of *Hizikia fusiforme* water extracts for 2weeks

2week Conc. (mg/kg b.w.)	Spleen-weight index[1]	Spleen Index[2]
0 (Control)	0.52 ± 0.1[a)3)]	1[a)]
50	0.53 ± 0.11	1.03 ± 0.28
500	0.48 ± 0.20	0.97 ± 0.49

1) Spleen-Weight Index = (spleen weight (g)/body weight (g)) × 100
2) Spleen Index = mean of (spleen-weight index) in test gourp /mean of (spleen-weight index) in control group
3) Values are not significantly different by Duncan's multiple range test.

Table 2. Proliferation index of splenocytes of mice orally administered with different levels of *Hizikia fusiforme* water extracts for 2weeks

2week	Proliferation index[1]		
Conc. (mg/kg b.w.)	without mitogen	Con A	LPS
0 (Control)	1[c)2)]	3.20 ± 0.19[c)]	1.81 ± 0.07[b)]
50	2.65 ± 0.21[a)]	5.53 ± 0.10[a)]	3.12 ± 0.07[a)]
500	1.51 ± 0.06[b)]	4.34 ± 0.16[b)]	1.69 ± 0.09[b)]

1) Proliferation index
= mean of O.D. in test wells/mean of O.D. in control wells
2) Means with different letters (a, b, c) are significantly different from each other at $\alpha = 0.05$ as determined by Duncan's multiple range test (a > b > c).

톳 추출물의 경구투여와 사이토카인 분비능

본 실험에서는 톳 추출물을 50 mg/kg B.W./day와 500 mg/kg B.W./day의 농도로 경구투여한 마우스로부터 복강 대식세포를 분리해 낸 다음 활성화된 대식세포가 생성해 낸 IL-1β, IL-6, TNF-α의 분비량을 측정하였고 각 군별 양의 대조군으로는 LPS (15 mg/ml)로 자극한 대식세포로부터 분비된 사이토카인을 측정함으로서 대식세포의 활성화에 대한 지표로 삼았다.

IL-1β 생성량. 활성화된 대식세포의 지표로 세포배양액

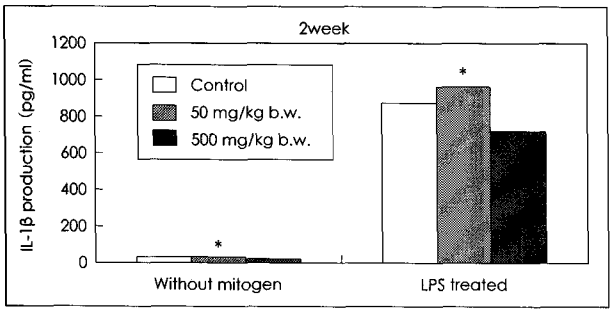

Fig. 2. IL-1 β production by activated peritoneal macrophage of mice orally administered with different levels of *Hizikia fusiforme* water extracts with or without mitogen treatment for 2weeks.
*: Significant difference from control at $p < 0.05$.

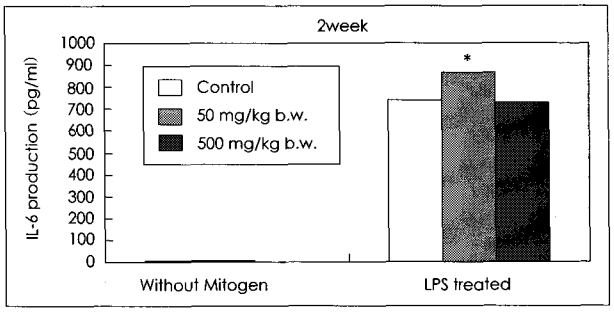

Fig. 3. IL-6 production by activated peritoneal macrophage of mice orally administered with different levels of *Hizikia fusiforme* water extracts with or without mitogen treatment for 2weeks.
*: Significant difference from control at $p < 0.05$.

의 IL-1 β의 함량을 ELISA cytokine kit (R&D system, USA)를 이용하여 측정한 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 2주 투여의 결과 LPS로 처리하지 않은 경우 50 mg/kg B.W.의 농도에서 32.47 ± 1.23 pg/ml로 대조군 (29.48 ± 1.30 pg/ml)에 비해 유의적으로 높은 생성을 보였고 반면 500 mg/kg B.W. 농도에서는 20.52 ± 0.71 pg/ml로 대조군에 비해 낮은 생성량을 나타냈다. LPS 처리에 의한 영향도 50 mg/kg B.W.의 농도에서 964.96 ± 10.25 pg/ml로 대조군 (875.30 ± 11.32 pg/ml)에 비해 유의적으로 높은 생성을 보였고 500 mg/kg B.W.의 농도에서는 719.89 ± 9.04 pg/ml로 대조군에 비해 낮은 생성량이 관찰되었다. 해조류의 하나인 다시마 섭취에 대한 연구에 따르면 정상과 당뇨 마우스 대식세포의 cytokine 분비에 미치는 영향을 알아보기 위해 섬유소 (cellulose)를 함유하는 대조식이와 다시마를 첨가하는 실험식이군의 복강 대식세포로부터 IL-1 β와 TNF-α 생성능을 측정한 결과 다시마 섭취군에서 IL-1 β분비가 50% 정도 높게 나타나 다시마 식이가 마우스의 복강 대식세포를 활성화시키는 것으로 보고하였다.[32] 따라서 본 실험의 톳 추출물을 경구 투여한 마우스의 대식세포에서 IL-1 β 분비량이 50 mg/kg B.W.의 농도에서 대조군에 비해 유의적으로 증가되어 톳 추출물이 마우스의 복강 대식 세포를 활성화하여 IL-1 β 생성을 촉진시킴으로서 면역증강에 영향을 미칠 수 있을 것으로 사료된다.

IL-6 생성량. 대식세포의 활성화에 대한 지표로 세포 배양액의 IL-6 함량을 측정하였으며 결과는 Fig. 3에 나타내었다. 2주 투여군의 결과, LPS로 처리하지 않은 경우 50 mg/kg B.W.과 500 mg/kg B.W. 농도에서 대조군보다 낮은 생성을 보였다. LPS 첨가시에는 50 mg/kg B.W. 농도군에서 868.25 ± 6.33 pg/ml으로 대조군인 737.60 ± 8.87 pg/ml에 비해 유의적으로 높은 IL-6 생성량을 보였고 500 mg/kg B.W. 농도군에서는 대조군에 비해 낮은 생

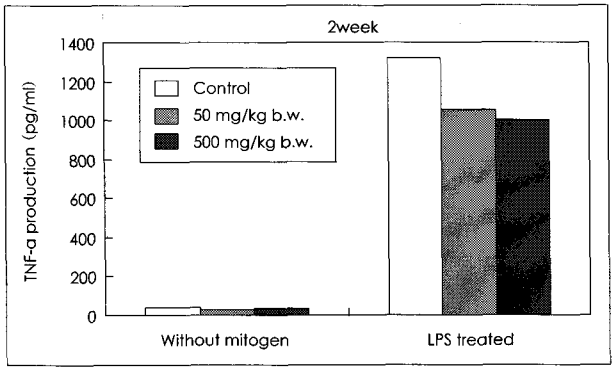

Fig. 4. TNF-α production by activated peritoneal macrophage of mice orally administered with different levels of *Hizikia fusiforme* water extracts with or without mitogen treatment for 2weeks.
*: Significant difference from control at $p < 0.05$.

성능을 보였으나 유의적이지는 않았다. 투여 농도와 관련된 다른 연구에 의하면[16] 톳의 추출을 100 mg/kg/day씩 마우스에 10일간 투여하였을 때 56.6%의 종양 성장 저지율을 보였다고 보고하였다. 이러한 결과는 50 mg/kg B.W. 농도군의 톳 추출물이 마우스의 복강 대식세포를 활성화시켜 IL-6의 생성을 촉진시킴으로서 면역기능 증강에 효과적으로 작용할 가능성이 있을 것으로 사료된다.

TNF-α 생성량. 대식세포의 활성화에 대한 지표로 세포 배양액의 TNF-α 함량을 측정하였으며 결과는 Fig. 4에 나타내었다. 2주 투여군을 살펴보면 LPS로 처리하지 않은 경우 50 mg/kg B.W과 500 mg/kg B.W. 농도에서 대조군보다 유의적으로 낮은 생성을 보였고 LPS 처리에 의한 영향도 같은 경향이었다. 다른 연구의 결과에 따르면 *Hizikia fusiforme*와 *Meristotheca papulosa*의 에탄올 추출물로부터 분리한 분자량 100 kDa의 다당류가 cytotoxic T-cell (272%, 239%)과 면역글로불린 (440%, 200%), TNF의 분비 (68%, 160%)를 증가시켰다는 보고가 있다.[33] 본 연구 결과에서 보여준 TNF-α 생성의 결과와는 차이를 보이고 있다. 이상의 결과 톳 추출물을 경구 투여한 마우스 복강 대

식세포의 IL-1β, IL-6, TNF-α 생성이 사이토카인 종류에 따라 다소 차이를 보이기는 하지만 LPS 자극에 의해 증가되었는데, 이는 LPS 자극으로 대식세포의 C3 수용체에 작용하여 체내를 보호하려는 기전[34]에 의한 것으로 생각된다. LPS로 자극하지 않은 경우는 대조군에 비해 낮은 생성능을 보이거나 큰 차이를 나타내지 않았으나 대내외적 자극에 의한 면역체계 활성화를 알아보기 위해 LPS를 첨가하여 톳 추출물의 면역 활성을 본 결과에서는 50 mg/kg B.W.의 농도에서 높은 활성을 나타냈다. 이는 톳 추출물 섭취에 의해 면역 활성을 잠재적으로 가지고 있다가 항원(외부물질) 침입시 톳 추출물이 면역세포의 활성화에 작용하여 면역기능에 영향을 미치는 것으로 사료되며, 보다 더 다양한 사이토카인에 대한 연구가 함께 이루어져야 할 것으로 사료 된다.

요 약

생체 내 (*in vivo*) 실험에서 톳 추출물을 2주 동안 격일로 0, 50, 500 mg/kg B.W.의 농도로 마우스에 경구투여한 후 비장세포 증식능 및 복강 대식세포에서 분비하는 cytokine (IL-1β, IL-6, TNF-α) 생성량을 검색한 결과 50 mg/kg B.W.과 500 mg/kg B.W.의 농도에서 Con A나 LPS로 자극 시 대조군에 비해 높은 비장세포 증식능을 보였고 특히 50 mg/kg b.w. 농도로 투여한 군에서 비장세포 증식능이 최대를 나타내는 것을 알 수 있었다. 복강 대식세포에 의한 cytokine 생성량을 측정한 결과 LPS 첨가시 IL-1β의 분비량은 2주 경구 투여 시에 50 mg/kg B.W.의 농도군에서 가장 높은 생성량을 보였다. 이는 LPS를 투여한 군과 투여하지 않은 군에서 모두 동일한 경향을 보였다. IL-6 분비량은 LPS 첨가시 50 mg/kg B.W.의 농도 투여군에서 가장 높은 생성을 나타냈다. TNF-α의 경우는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이상의 결과로 톳 열수 추출물은 대식세포의 활성화에 작용하여 사이토카인 생성을 증가시키는데 영향을 미칠 수 있는 것으로 예측된다. 따라서 톳 추출물은 마우스 면역계의 조절기전에 작용하여 비장세포와 대식세포의 활성화를 유도함으로써 면역세포 활성을 직접적으로 촉진시키거나 또는 이와 관련된 다른 면역반응에 영향을 미침으로서 면역 활성에 효과적으로 작용할 가능성이 있으리라 사료된다.

Literature cited

1) Arai S. studies on Function Foods in Japan-state of Art. Biosci. Biotechnol. *Biochem* 1996; 60: 9-15
2) Goldberg I. Functionl Foods, Designer Foods. Phamafoods. Nutraceuticals Chapman & New York; 1994
3) Pyo MY, Hyun SM. Effects of *Phellinus linteus* Extracts on the Humoral Immune Response in Normal and Cyclophosphamide-treated Mice. *the Journal of Applied Phamcology* 2001; 9: 194-200
4) Park JS, Chyun JH. Effects of Low Fat Diet and Saturated Fat Supplementation on the Immune Status of BALB/c Mouse. *Korean J Nutr* 1993; 26(5): 578-585
5) Wagner H. Search for plant derived natural products with immunostimulatory activity. Pure & Appl. *Chem* 1990; 66(7): 1271
6) Kim JA, Lee JM. The change of Biologically Functional Compound and Antioxidant Activities in Hizikia Funsiformis with Drying Methods. *Korean J Food Culture* 2004; 19(2): 200-208
7) Jung YH, Jung BM, Shin MO, Bae SJ. A Study on the effect of anticarcinogenic activity of gloiopeltis tenax. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2006; 35(4): 395-401
8) Okai Y, Higashi-Okai K, Nakamura S. Identification of heterogenous antimutagenic activies in the extract of edible brown seaweeds, *Laminaria japonica* (Makonbu) and *Undaria pinnatifida* (Wakame) by the umu gene expression system in *Salmonella typhimurium* (TA1535/pSK1002). *Mutation Research* 1993; 303: 63-70
9) Suzuki T, Nakai K, Yoshie Y, Shirai T, Hirano T. Effect of sodium alginates rich in guluronic acid and mannuronic acids on cholesterol levels and digestive organs of high-cholesterol -fed rats. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1993; 59: 545-551
10) Park SY, Jung BM, Choi YH, Bae SJ. Growth inhibotion effects of cancer cell lines by gloiopeltis furcata fractions in vitro. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2005; 34(6): 771-775
11) Lee HS, Jung HS, Sun KH. Preparation of Antiacterial Agent from Seaweed Extract and Its Antibacterial Effect. *J Korean Fish Soc* 2000; 33(1): 32-37
12) Lim SB, Kim SH, Ko YH, Oh CK. Extraction Yields of *Hizikia fusiforme* and Aloe vera Linne by Supercritical Carbon Dioxide and Antimicrobial Activity of their Extracts. *Korean J Food Sci Technol* 1995; 27(1): 68-73
13) Koo JG, Choi YS, Kwak JK. Blood-Anticoagulant Activity of Fucoidans from Sporophylls of Unbaria Pinnatifida Laminaria religiosa, *Hizikia fusiforme* and Sargassum fulvellum in Korea. *J Korean Fish Soc* 2001; 34(5): 515-520
14) Kim KI, Seo HD, Lee HS, Jo HY, Yang HC. Studies on the Blood Anticoagulant Polysaccharid Isolated from Hot Water Extracts of *Hizikia fusiforme*. *J Food Sci Nutr* 1998; 27(6): 1204-1210
15) Jung BM, Ahn CB, Kang SJ, Park JH, Chung DH. Effects of *Hizikia fusiforme* Extracts on Lipid Metabolism and Liver Antioxidative Enzyme Activities in Triton- Induced Hyperlipidenic Rats. *J Food Sci Nutr* 2001; 30(6): 1184-1189
16) Ryu BH, Kim DS, Cho KJ, Sin DB. Antitumor activity of seaweeds toward sarcoma-180. *Korea J Food Sci Technol* 1989; 25(5): 595
17) Park KE, Jang MS, Lim CW, Kim YK, Seo YG, Park HY. Antioxidant Activity on Ethanol Extract from Boiled-water of *Hizikia fusiformis*. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 2005; 48(4): 435-439

18) Ko MS, Shin KM, Lee MY. Effect of *Hizikia fusiformis* ethanol extract on antioxidative enzymes in ethanol-induced hepatotoxicity of rat liver. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2002; 31: 87-91
19) Bae SJ. Anticarcinogic effect of *Sargassum fulvellum* fractions on several human cell lines in vitro. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2004; 33: 480-486
20) Kim SA, Kim J, Woo MK, Kwak CS, Lee MS. Anticarcinogic nad cytotoxic effect of ethanol extracts from five kinds of seaweeds. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2005; 34: 451-459
21) Yan X, Chuda Y, Suzuki M and Nagata T. Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hizikia fusiforme* a common edible seaweed. *Biosci Biotechnol Biochem* 1997; 63(3): 605-610
22) Mishell BB and Shigi SM. Selected methods in cellular immunology. 1st ed. San Francisco. *WH Freeman and Co.* 4; 1980
23) Kim J, Ryu HS, Shin JH, Kim HS. In vitro and Ex vivo Supplementation of Houttuynia cordata Extract and Immunomodulating Effect in Mice. *J Food Sci Nutr* 2005; 34(2): 167-175
24) Sung Hye Kim. Effect of *Phlomis umbrosa Turcz* ethanol extract on mouse splenocyte proleferation and cytokine production by activated peritoneal Master's thesis. Sookmyung Women's university; 2001
25) Kim J. Enhancing effect of Paeonia japonica, Houttuynia cordata, and Aster scaber extracts on the immunoreactivity *in vivo* in mice. Ph.D. Dissertation Sookmyung Women's university; 2003
26) You sook Lee. Effect of bark Extract on Modulation of Immunocompetence and Irradiation-induced Inflammation Response in Mice. Ph.D. Dissertation Sookmyung Women's university; 2003
27) Toshiaki M, Takahiko O, Eri M, Gisho H. Inhibitory Effect of Perilla frutescens and its Phenolic Constituents on Cultured Murine Mesangial Cell Proliferation. *Planta Medica* 1998; 64: 541
28) Yoo YS, Jung MT, Hahm CS. Interleukin-2 Comparison Study ^{3}H-thymidine Incorporation Assay and MTT Assay in the Measurement of IL-2 Activity. *Korean J of Immuonology* 1989; 11: 39
29) Starkbaum G. Role of cytokines in rheumatoid arthritis. *Science & medicine* 1998; march April: 6-15
30) Ryu HS, Kim HS. Enhancing Effects of Ginger (zingiber officinale Roscoe) Extracts on Mouse Spleen and Macrophage Cells Activation. *Korean J of Nutr* 2004; 37(9): 780-785
31) Cho SH, Yang KM, Bae BS, In SA, Yu RN. Effect of sea Tangle Intake on Proliferation of Splenocytes from Normal and Diabetic Mice. *Korean J of Nutr* 1998; 31(6): 973-980
32) Cho SH, Yang KM, Bae BS, In SA, Yu RN. Effect of sea Tangle Intake on Cytokine Production in Macrophage from Normal and Diabetic Mice. *J Food Sci Nutr* 1998; 27(5): 952-959
33) Shan BE Yoshida Y, Kuroda E, Yamashira U. Immunomodulating activity of seaweed extract on human lymphocytes *in vitro*. *Int J Immunopharmacol* 1999; 21(1): 59-70
34) Park HR, Kim SH, Yee ST, Byun MW, Jo SK. Effect of a Herb Mixture (Him-1) on the Protection of the Henatopoietic Immune System and self-renewal Tissues against Radiation Damage. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2005; 34(5): 605-612