

가시오갈피 뿌리의 면역세포 활성화 및 방사선 병용효과

전북대학교 의학전문대학원 방사선종양학교실, 의과학연구소*, 익산대학 약재개발과[†], 우석대학교 식품생명공학과[†]

권형철* · 박정섭[†] · 최동성[†]

목적: 가시오갈피 뿌리 추출물(Extract of *Eleutherococcus senticosus* Maxim root, ESMR)의 면역세포의 활성화에 미치는 효과와 마우스 종양세포에서 세포독성 및 방사선 병용효과를 알기위해서 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법: 가시오갈피 뿌리(250 g)를 80% 메탄올로 추출한 다음, 감압농축 및 동결과정을 통해 분획을 얻었다. 세포 주는 섬유육종세포를 이용하였으며, 방사선조사는 저 에너지(250 KV)용 방사선 기기를 사용 하였다. 가시오갈피 추출물의 면역세포에 미치는 활성화효과를 알아보기 위해서 마우스 비장 및 흉선세포의 생존을 측정과 비장 및 흉선림프구 아집단을 측정하였다. 세포독성 정도를 알아보기 위하여 clonogenic assay법을 이용하였다. 방사선조사 단독군의 경우 2, 4 및 6 Gy를 마우스 섬유육종세포(FSa II)에 조사하였으며, 가시오갈피와 방사선 병용군의 경우 0.2 mg/ml 농도의 가시오갈피를 방사선조사 1시간 전에 마우스 섬유육종세포에 접촉시켰다.

결과: 가시오갈피 뿌리 추출물 각각 10 µg/ml과 100 µg/ml을 첨가한 마우스 비장 및 흉선세포 생존율은 다음과 같았다. 마우스 비장세포는 각각 8.8±1.7%와 37.7±2.1%로 증가하였으며, 흉선세포에서는 100 µg/ml에서 16.7±1.6%로 증가하였다. ESMR을 경구 투여한 마우스 비장 및 흉선림프구는 다음과 같았다. 마우스 비장세포의 B cell은 41.5 (±1.3)에서 46.0 (±1.5)%로, T cell은 16.9 (±0.9)에서 22.3 (±1.2)%로 증가하였으며, 특히 Helper T (Th) cell은 10.4 (±0.7)에서 14.2 (±0.8)%로, Cytotoxic T (Tc) cell은 3.6 (±0.4)에서 5.6 (±0.3)%로 증가하였다. 그러나 마우스 흉선세포에서 T 림프구의 증가율은 거의 보이지 않았다. 마우스 섬유육종 세포에서 ESMR의 세포독성을 나타내는 생존분율은 0.2, 2.0 mg/ml에서 각각 0.36±0.02, 0.05±0.02으로 나타났다. 마우스 섬유육종 세포를 접종한 마우스에 ESMR 0.2 mg/ml 농도를 1시간 동안 접촉시킨 다음, 방사선조사량 2, 4 및 6 Gy를 조사한 후 얻은 생존분율은 0.39, 0.22 및 0.06이었으며, 방사선조사 단독군의 경우는 0.76, 0.47 및 0.37로 나타났다. 그리고 두 군 간의 차이는 통계학적 의미를 나타냈다(p<0.05).

결론: 가시오갈피 뿌리 추출물은 *in vitro* 실험에서 마우스 비장세포의 생존율을 증가시켰다. *In vivo* 실험에서는 마우스 비장 내 B세포 및 T세포를 증가시켰으나, 마우스 흉선세포에 대해서는 증가를 보이지 않았다. ESMR은 마우스 섬유육종 세포에 대해 강한 세포독성 효과를 나타냈다. FSa II를 접종한 마우스에서 방사선 단독 보다 ESMR을 병용한 경우 방사선에 의한 세포손상이 약 50% 이상 증가되었으며, 두 군 간의 차이는 통계학적 의미를 나타냈다(p<0.05).

핵심용어: 가시오갈피, 면역, 세포독성, X-선 조사

서 론

암 치료에 있어서 수술, 방사선 및 화학치료는 이미 표준적인 치료 방법으로 정착되어 있으며, 이들 치료 방법을

병용함으로써 1980년대 이후부터 5년 생존율은 50%를 넘고 있다.¹⁾ 특히 방사선 치료는 컴퓨터와 디지털 기술의 발달에 힘입어 종양만을 최적화하여 조사할 수 있는 기술로 발전되고 있으며, 항암 화학치료제는 분자생물학 분야의 발달로 암세포만을 정확하게 타격할 수 있는 새로운 표적 치료 항암제로서 발전을 거듭하고 있다. 그러나 비록 이러한 기술의 발달로 생존율은 계속해서 증가하고 있으나, 이러한 치료의 대부분은 아직도 많은 후유증을 동반하고 있어서, 약물이나 방사선치료의 합병증을 완화시키고 이러한 치료의 효과를 증대시키는 연구가 진행되고 있다.

이 논문은 2007년 7월 18일 접수하여 2007년 9월 10일 채택되었음.
책임저자: 권형철, 전북대학교병원 방사선종양학과
Tel: 063)250-1195, Fax: 063)250-1192
E-mail: hckwon@chonbuk.ac.kr
본 연구는 2003년도 전북대학교(병원) 교수 해외연구에 관한 일부 지원에 의하여 연구되었음.

인삼과 같이 두릅나무과에 속하는 가시오갈피(*E. senticosus Maxim*)는 그 생김새뿐만 아니라, 성분 및 효능 또한 인삼과 유사하여 러시아 및 미주, 유럽지역에서는 Siberian ginseng이라 불리고 있으며, 인삼과 더불어 많은 연구가 진행되고 있다. 가시오갈피는 1969년 Breckmann과 Dardymov²⁾에 의해 adagen으로서의 효능이 처음으로 규명된 이후 항피로, 항스트레스, 면역력 증진, 담즙분비 촉진, 항고지혈증, 항암, 항알레르기 효과 등의 다양한 생리활성이 밝혀졌고,^{3,4)} 방사선에 의한 DNA 손상 억제물질로는 syringin,⁵⁾ 항암물질로는 sesamin⁶⁾ 등이 함유되어 있음이 보고되어 있다. 한편 가시오갈피의 항돌연변이 효과에 대한 연구는 Strel'chuk⁷⁾이 ethylmethane sulfonate를 처치한 가시오갈피의 항돌연변이 효과를 보고하였고, Salikhova 등⁸⁾은 인삼을 이용하여 Chinese hamster cell의 염색체 이상을 감소시켰다는 보고를 하였으며, 세균시험에서 2-AF, Trp-P-1, 1-NP 등에 의해 유도된 돌연변이를 가시오갈피에 의해 억제하였다는 Park 등^{9,10)}의 보고가 있다.

저자들은 암 치료의 효과를 상승시키기 위한 방법으로, 국내에서 생산되는 생약재에 1990년대 중반부터 관심을 두기 시작하였으며, 인삼, 영지 등을 이용하여 마우스 종양세포에 있어서 세포 독성과 종양의 성장억제에 미치는 영향에 대한 연구 결과를 보고한 바 있다.^{11,12)} 종전의 연구에서 인삼과 영지버섯이 임의의 농도 이상에서 마우스 종양세포에 대한 세포독성이 높고 동시에 종양세포의 성장을 지연시키는 것을 관찰하였다.

본 연구에서는 국내에서 생산되는 가시오갈피 뿌리 추출물의 면역세포의 활성화에 미치는 효과를 살펴보고자 마우스 비장 및 흉선세포의 증식과 면역세포 아집단에 미치는 영향을 관찰하였고, 마우스 종양세포에서 항종양성을 알아보기 위하여 시험관 내 가시오갈피 및 방사선조사 병용과 방사선조사 단독 상황에서 세포독성효과를 관찰하였다.

대상 및 방법

1. 실험동물 및 종양세포 주

본 실험에 아용한 마우스는 BALB/c계통 웅성(8주령, 20±2 g)을 대한실험동물(주)에서 구입해서 사용하였으며, 사육은 온도 22±2°C, 습도 55±5%, 명암 주기(dark and light cycle)는 12시간 단위로 조절하였다. 고형 펠렛 사료와 물은 자유 섭취하도록 하였다. 또한 실험세포 주는 한국생명공학연구원(대덕, 대전)에서 분양받은 5~6주 태생의 C3H/N 마우스를 통해 얻은 섬유육종 세포(FSa II)를 사용하였다.

2. 시약, 기기 및 X-선 조사

RPMI1640 media, fetal bovine serum, phosphate buffered saline 등은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA) 제품, PE-conjugated anti-CD4/FITC conjugated anti-CD8, PE/FITC conjugated-anti B220 Thy 1 antibody 등은 Caltag (Burlingame, CA, USA)를, 기타 시약은 특급시약 및 세포배양용 시약을 사용하였다. 또한 culture flask와 96well microplate (Nunc, Denmark), inverted microscope (Zeiss Co, Axiovert 25, Germany), ELISA 판독기(Dynatech, MR500, USA), flow cytometer (Coulter, EPICS-XL, USA)를사용하였고, centrifuge (VS-1500CF), CO₂ incubator (VS-9108MS)는 Vision사의 제품, freezer dryer (FD5505)는 일신엔지니어링 제품을 사용하였다. 방사선조사는 저 에너지(250 KV)용 방사선 기기(지멘스, 독일)를 사용하였으며, 사용된 방사선 조사량은 2, 4, 6 Gy이었다.

3. 시료의 제조

전북 장수군 가시오갈피영농조합에서 분양받은 가시오갈피의 뿌리 250 g에 80% 메탄올 1.0 L를 가하고 40°C에서 12시간씩 세 번을 반복 진탕 추출한 다음, 감압 농축하고 동결 건조하여 23.7 g의 시료를 얻었다. 각 시료의 추출액은 증류수에 용해하여 0.22 μm pore size의 여과기(Millipore, filter type GS)로 여과 멸균하여 시료 원액을 만들고 이로부터 각각의 희석 액을 만들어 실험에 사용하였다. 또한 가시오갈피 뿌리 추출물의 세포 독성실험 비교를 위해 고려인삼, 영지버섯 및 홍삼의 시료를 사용하였다. 고려인삼 50 g과 영지버섯 150 g에 각각 1.0 L의 증류수를 가하고 100°C에서 5시간 동안 환류 추출한 다음 여과지(Whatman No. 2)로 여과하였으며, 이 액을 원심 분리하여 냉각시킨 후 동결 건조하여 시료로 하였다. 동결 건조로 얻어진 인삼과 영지버섯 추출물은 각각 16.6 g과 12.7 g이었다. 홍삼의 경우 한풍제약에서 생산된 한풍 홍삼액[®](과우치 용기 80 ml 에 홍삼 고형성분 3% 포함)을 동결 건조하여 사용하였다.

4. 마우스 비장 및 흉선 세포의 생존율 측정

마우스를 경추 탈구시켜 비장 및 흉선을 무균으로 적출하고 각각의 세포를 Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (DPBS)로 세정하고 1,500 rpm에서 10분간 원심 분리하여 세포부유 액을 세 번 반복하여 조제하였다. 이 세포 부유 액을 1×10⁶ cells/well이 되도록 세포 수를 조정한 다음, 비장세포 부유 액에는 LPS (10 μg/ml)를, 흉선세포 부유 액에

는 Con A(1 µg/ml)를 접촉한 다음, 최종 농도가 10, 100 µg/ml가 되도록 가시오갈피 뿌리 추출물을 첨가하여 48시간 동안 37°C의 5% CO₂배양기 내에서 배양하였다. 배양 종료 4시간 전에 5 mg/ml 농도로 DPBS (pH 7.4)에 희석된 mitochondrial transmembrane potential (MTP) 용액 20 µl을 각 well에 첨가하고, 0.1 N HCl에 녹인 10% SDS 100 µl로 용해시켜 18시간 동안 빛을 차단하였다. 발색된 각 well의 흡광도를 ELISA 판독기를 이용해서 570 nm에서 측정하고 대조군의 흡광도와 비교하여 세포생존율을 백분율(%)로 환산하였다.¹³⁾

5. 마우스 비장 및 흉선 림프구의 아집단 측정

마우스에 가시오갈피뿌리 추출물(*Eleutherococcus senticosus* Maxim root extract) 500 mg/kg를 3주간 경구 투여하고 경추 탈구시켜 마우스 비장 및 흉선을 적출한 후, 비장 및 흉선 세포 부유 액을 조제하고 1×10⁶ cells/well에 PE/FITC conjugated-anti B220 Thy1 antibody, PE-anti CD4/FITC-anti CD8 monoclonal antibody (1: 30 dilution)로 이중 염색하여 4°C에서 30분 동안 반응시키고, flow cytometer (excitation: 488 nm, emission: 525 nm/FITC, 575 nm/PE)를 이용하여 각각 세포 중의 림프구 아집단을 측정하였다.¹⁴⁾

6. 세포독성 및 방사선조사 효과

마우스 섬유육종 세포에 대한 세포독성 정도와 방사선 보조효과를 알아보기 위하여 clonogenic assay 법^{15,16)}을 이용하였다. 200, 2,000 및 20,000개의 섬유육종 세포를 10% 혈청이 함유된 RPMI 1640 배지 액에 첨가하고 15시간 배양하였다. 지수성장기에 도달한 후 각 농도의 가시오갈피 뿌리추출물과 비교 실험을 위한 고려인삼, 영지 및 홍삼 추출물을 각각의 세포 주 함유 배지에 첨가하여 1시간 동안 접촉시켰다. 그 후 RPMI 1640 배지로 세척하여 1주일 동안 CO₂ 배양기(37°C, 5% CO₂ 조건)에서 배양하면 중앙세포주의 군집 형태인 콜로니가 형성되는데 이를 95% 알코올로 고정된 뒤 crystal violet으로 염색하여 콜로니 수를 계산하였다. 그리고 콜로니 수의 비율에 따라 생존분율을 구하였다.

방사선조사 단독군의 경우 섬유육종 세포에 2, 4 및 6 Gy를 조사하였고, 가시오갈피와 방사선 병용군의 경우는 가시오갈피 0.2 mg/ml 농도의 추출물을 RPMI 1640 배지액과 마우스 섬유육종 세포가 포함되어 있는 배지에 1시간 접촉한 직후 동일한 방사선 조사량을 주어 상기와 같은 방법을 이용하여 각각 생존분율을 구하였다. 두 군사이의 생존분율 차이는 SPSS (version 12.0) 프로그램의 일반 선형 모델 중 단 변량 공산분석을 이용하였다.

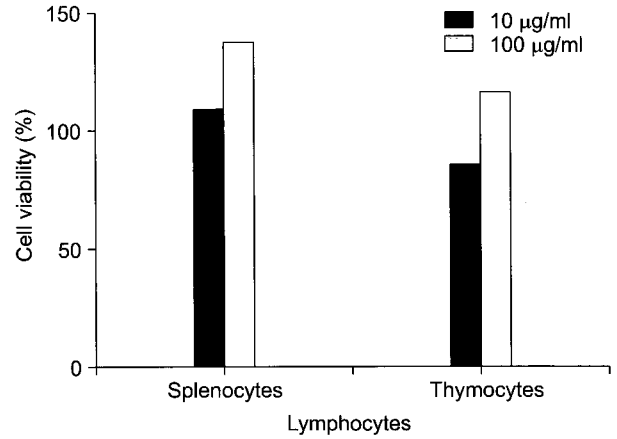


Fig. 1. Effect of cell viability on the extract of *E. senticosus* Maxim root-pretreated mouse splenocytes and thymocytes (*in vitro*). The extract of *E. senticosus* Maxim Root (10, 100 mg/ml) was treated to cultured splenocytes or thymocytes for 48 hours. The cell assayed by MTT method. The OD of each well was measured at 570 nm with a microplate reader. The data represents the mean±SE of 3 experiments.

결 과

1. 면역세포의 생존율에 미치는 효과(*in vitro*)

ESMR을 첨가한 마우스 비장 및 흉선세포 배양에서 생존율에 미치는 효과를 살펴본 결과는 Fig. 1과 같다. 비장 세포는 대조군에 비하여 10, 100 µg/ml의 ESMR 첨가 군에서 각각 8.8±1.7%와 37.7±2.1%로 증가하였으며, 흉선세포에 대해서는 각각 -14.2±1.4%와 16.7±1.6%의 증가를 나타냈다. 비장세포에 대해서 ESMR은 농도 의존적으로 증식 효과를 나타낸 반면, 흉선세포에 대해서는 낮은 증가율을 나타냈다.

2. 마우스 비장 및 흉선세포의 아집단에 미치는 효과(*in vivo*)

ESMR을 경구 투여한 마우스 비장세포 및 흉선세포 살펴본 결과는 Table 1과 같다. 비장세포의 B cell은 41.5 (±1.3)에서 46.0 (±1.5)%로, T cell은 16.9 (±0.9)에서 22.3 (±1.2)%로 증가하였으며, 특히 Th cell은 10.4 (±0.7)에서 14.2 (±0.8)%로, Tc cell은 3.6 (±0.4)에서 5.6 (±0.3)%로 증가하였다(p<0.05). 그러나 흉선세포에서 T 림프구 증가율은 거의 보이지 않았다.

3. 마우스 섬유육종세포에 대한 세포독성 효과

마우스 섬유육종 세포의 생존분율에 미치는 ESMR의 세포독성 효과는 Fig. 2와 같다. ESMR 농도 0.2, 2.0 mg/ml에

Table 1. The Effects of *E. senticosus* Maxim Root on the Lymphocyte Subpopulation Change in Mouse Splenocytes and Thymocytes (*in vivo*)

Treatment	Cells	Splenocytes (%)		Thymocytes (%)		
		B cell	T cell		Th	Tc
			Th	Tc		
Control		41.5 (±1.3)	16.9 (±0.9)	9.0 (±0.2)	1.6 (±0.2)	
			10.4 (±0.7)	3.6 (±0.4)		
<i>E. senticosus</i>		46.0 (±1.5)*	22.3 (±1.2)*	8.9 (±0.8)	1.8 (±0.7)	
			14.2 (±0.8)*	5.6 (±0.3)*		

The extract of *E. senticosus* Maxim root (500 mg/kg) was administered p.o. once a day for 7 days, thereafter each cells were collected and lymphocyte subpopulation was measured by flow cytometer staining with PE or FITC conjugated anti-B220/Thy1 or CD4/CD8 monoclonal antibody. Each data represents the mean±S.E of 5 mice. *Significantly different from control group (p<0.05).

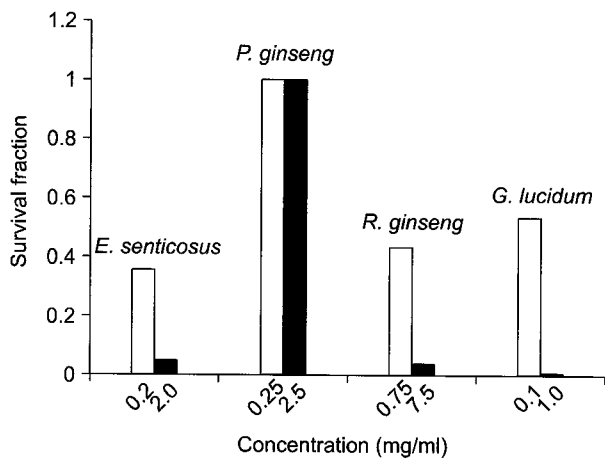


Fig. 2. Surviving fraction of domestic herb medicinal extracts on mouse fibrosarcoma tumor cell. Each concentration of methanol extract of *E. senticosus* Maxim root (0.2, 2 mg/ml), water extract of *Panax ginseng* (0.25, 2.5 mg/ml), red ginseng extract (0.75, 7.5 mg/ml) and water extract *Ganoderma lucidum* (0.1, 1 mg/ml) were treated to fibrosarcoma tumor cell for 1 hour, respectively.

서 각각 0.36±0.02, 0.05±0.02으로 나타났다. ESMR과 비교 실험을 위한 고려인삼 추출물 농도 0.25, 2.5 mg/ml의 경우는 모두 1.0을 나타냈고, 홍삼 추출물 농도 0.75 및 7.5 mg/ml의 경우 각각 0.44±0.006, 0.04±0.004으로 나타났으며, 영지 추출물 농도 0.1 및 1.0 mg/ml에서 각각 0.54±0.005, 0.005±0.0004으로 나타났다. ESMR과 비교 실험을 위한 각각의 추출물 농도에서 고려인삼은 세포독성 효과를 거의 나타내지 않았으나, 가시오갈피, 홍삼, 영지의 경우에는 현저한 세포독성 효과를 나타냈다.

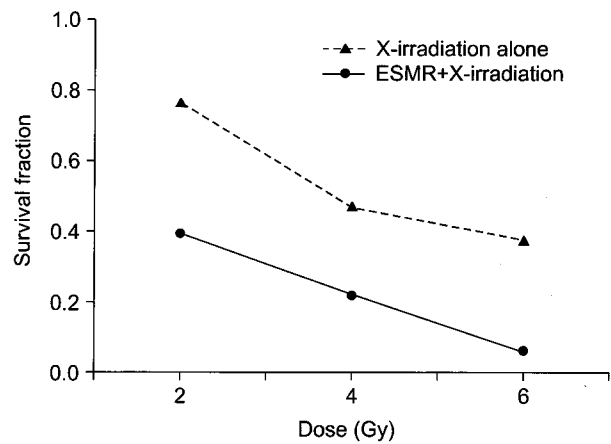


Fig. 3. Survival fraction of mouse fibrosarcoma tumor cell at 2, 4, 6 Gy. 0.2 mg/ml of methanol extract of *E. senticosus* Maxim root was contacted to fibrosarcoma tumor cell for 1 hour before X-ray irradiation.

4. 방사선조사와 가시오갈피 병용에 의한 세포독성

마우스 섬유육종세포에 ESMR 0.2 mg/ml 농도를 1시간 동안 접촉시킨 다음, 병용 목적으로 방사선 조사량 2, 4 및 6 Gy를 조사한 후 얻은 생존율은 Fig. 3과 같다. 방사선 단독으로 마우스 섬유육종 세포에 조사하였을 경우 조사량이 증가함에 따라 생존율은 각각 0.76±0.02, 0.47±0.008 및 0.37±0.01로 세포독성을 나타냈으며, ESMR과 병용하였을 경우 각각 0.39±0.005, 0.22±0.005 및 0.06±0.007로 세포독성을 나타냈다. 즉 ESMR을 접촉 후 방사선 조사를 할 경우, 방사선에 의한 세포손상이 약 50% 이상 증가되었고, 두 군 간의 차이는 통계학적 의미를 나타냈다(p=0.0002).

고안 및 결론

많은 암 환자들은 방사선치료나 화학치료 중 또는 후에 몸의 활력을 증가시키기 위하여 많은 건강보조식품을 섭취한다. 특히 우리나라에서 많이 복용되는 인삼은 기운을 돋우고, 소화흡수 기능을 높여 위장관 질병을 개선시킬 수 있으며, 또한 항암작용 뿐만 아니라 신체에 방사선조사로 인한 부작용을 감소시키기도 한다.^{17,18)} Siberian ginseng이라 불리는 가시오갈피는 이러한 인삼과 같은 두릅나무과에 속하는 식물로 성분뿐만 아니라 생리활성 또한 유사하여 최근에 건강보조식품으로 많이 이용되고 있다. 가시오갈피에 대한 최근 연구에 따르면, 가시오갈피는 항암 및 항산화, 면역력 증진, 항돌연변이 등 많은 생리활성을 나타내는데, 그 유효성분으로 리그난 배당체인 acanthoside B, D, 페놀성분 및 polyacetylene계 물질 등에 기인한 것으로 밝혀지고 있다.^{19,20)} 특히 인삼에서 분리된 polyacetylene계 물질이 다양한 생리활성을 나타내는 것이 확인되면서, 가시오갈피에서 분리된 polyacetylene계 물질에 대한 분리 및 효능에 관한 연구가 시도되고 있다. 김 등²⁰⁾에 의해 가시오갈피의 수피로부터 분리된 faltarinol (heptadeca-1,9-dien-4, 5-dien-3-ol; panaxynol)은 polyacetylene계 화합물의 일종으로 식물이 병원균의 침입을 받을 때 생성되는 타감물질 (phytoalexin)의 일종으로 항균활성뿐만 아니라 암세포에 대한 세포독성효과, 인체 내 혈액응고억제 등의 다양한 약리활성도 나타낸다고 보고되고 있다.^{21,22)}

본 연구에서는 ESMR의 비장 및 흉선세포의 증식, 면역세포 아집단에 미치는 효과와 마우스 섬유육종 세포(Fsa II)에 대한 세포독성효과를 관찰하였다. 또한 과다한 방사선량은 암세포뿐만 아니라 다른 정상세포를 괴사시키는데, 적은 방사선량으로 같은 효과를 나타내는지 알아보기 위하여, ESMR과 방사선을 병용하여 마우스 섬유육종 세포에 대한 세포독성을 관찰하였다.

ESMR은 시험관 내 실험에서 비장 및 흉선세포의 증식을 촉진하였으며, 마우스 비장 및 흉선세포의 아집단 분석 결과 비장의 B세포와 T세포의 Th세포 및 Tc세포 모두를 증가시키는 것으로 보아 이를 항진시킴으로서 면역력을 조절하는 것으로 사료된다. 또한 clonogenic assay에 의해 얻어진 마우스 섬유육종세포에 대한 ESMR의 시험관내 세포독성 효과는 0.2, 2 mg/ml 농도에서 각각 0.36, 0.06 생존율을 나타내 우수한 세포독성을 나타냈다. ESMR과 비교 실험을 위한 영지 및 홍삼에서 강한 세포독성을 나타내었으나, 인삼은 세포독성을 나타내지 않았다. 이러한 결과는

저자들이 전에 시행한 연구^{11,12)}에서 얻어진 결과와 유사하였다.

또한 방사선 병용평가에 있어서 방사선 단독 보다, ESMR과 병용하였을 때 더욱 강한 세포독성을 나타냈다. 이는 ESMR의 세포독성 효과가 방사선조사 시 세포독성과 병용되어 세포독성이 증가됨으로서 항종양효과를 나타내는 것으로 판단되며, 가시오갈피 뿌리 추출물을 투여할 경우 보다 적은 양의 방사선을 조사하더라도 소기의 치료효과를 얻을 수 있을 것으로 사료된다.

결론적으로 ESMR은 *in vitro* 실험에서 마우스 비장세포의 생존율을 유의성 있게 증가시켰다. *In vivo* 실험에서는 비장 내 B세포 및 T세포를 증가시켰으나, 흉선세포에 대해서는 증가를 보이지 않았다. ESMR은 마우스 섬유육종 세포에 대해 강한 세포독성 효과를 나타냈다. Fsa II를 접종한 마우스에서 방사선 단독 보다 ESMR을 병용한 경우 방사선에 의한 세포손상이 약 50% 이상 증가되었으며, 두 군 간의 차이는 통계학적 의미를 나타냈다.

참 고 문 헌

1. http://rex.nci.nih.gov/NCI_Pub_Interface/raterisk/rates28.html
2. Breckmann II, Dardymov ID. New substances of plant origin which increase nonspecific resistance. *Ann Rev Pharmacol* 1969;9:419-430
3. Davydov M, Kirkorian AD. *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim. (Araliaceae) as an adaptogen: a closer look. *J Ethnopharmacol* 2000;72:345-393
4. Deyama T, Nishibe S, Nakazawa Y. Constituents and pharmacological effects of *Eucommis* and Siberian ginseng. *Acta Pharmacol* 2001;22:1057-1070
5. Ruijun Z, Jinkang Q, Gnanhua Y, Baozhen W, Xiulan W. Medicinal protection with Chinese herb-compound against radiation damage. *Aviation, Space Environ Med* 1990;61:729-731
6. Hibasami H, Fugikawa T, Takeda S, et al. Induction of apoptosis by *Acanthopanax senticosus* HARMS and its component, sesamin in human stomach cancer KATO III cells. *Oncol Rep* 2000;7:1213-1216
7. Strel'chuk SI. Anti mutagenic effect of *Eleutherococcus* extracts plants treated with ethylmethane sulfonate. *Tsitol Genet* 1987;21:136-139
8. Salikhova RA, Umnova NV, Fomina MM, Poroshenko GG. An anti mutagenicity study of bio-ginseng. *Izvestiia Akademii Nauk. Serria Biologicheskaiia* 1994;1:48-55
9. Park JS, Oh CH, Ko HY, Choi DS. Anti mutation effect of *Eleutherococcus senticosus*. Extract *J Korean Soc of Food Science and Technology*. 2002;34:1110-1114

10. Park JS, Ahn BY, Ko HY, Choi DS. Anti mutation effect of *Eleutherococcus senticosus* Extract against direct mutational source. Korean J Biotechnol Bioeng 2003;18:165-170
11. Kwon HC, Kim JS. Antitumor effect of korean ginseng: cytotoxicity and tumor growth delay (1). The Jeonbuk University Medical Journal 1996;20:97-102
12. Kwon HC, Kim JS, Choi KC, Choi DS, Song CW. Antitumor effect of *Ganoderma lucidum*; Cytotoxicity and Tumor growth delay (1). J Korean Soc Ther Radiol 1994;12:301-305
13. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival application to proliferation and cytotoxic assays. J Immunol Methods 1983;65:55-63
14. Shortman K, Backson H. The differentiation of T lymphocytes; proliferation kinetics and interrelationships of subpopulations of mouse thymus cells. Cell Immunol 1974;12:230-246
15. Rhee JG, Schuman VL, Song CW. Difference in the thermotolerance of mouse mammary carcinoma cells in vivo and vitro. Cancer Res 1997;47:2571-2575
16. Hall EJ. Radiobiology for the radiobiologist. 3rd ed. Philadelphia, PA: JB Lipincott Co. 1998:18-38
17. Jang SK, Kim JH, Jeong YS. Immune activity and antitumor effect of Korean red ginseng. Korean J Ginseng Sci 1994;18:151-159
18. Nakata, H, Kikuchi Y, Tode T. Inhibitory effects of ginsenoside R_n2 on tumor growth in nude mice bearing human ovarian cancer cells. Jpn J Cancer Res 1998;89:733-740
19. Shim SH, Koh HY. Polyacetylene compound from Panax Gin-seng C.A. Meyer. Korean J Ginseng Sci 1983;4:183-188
20. Kim SJ, Chang KS. Separating of Falcarinol from Acanthopanax senticosus. Korean J Food Sci Technol 2005;37:360-363
21. Hiroaka, N, Chang, JI, Bohm RL, Bohm BA. Furano-coumarin and polyacetylenic compound composition of wild Glehnia littoralis in North America. Biochem System Ecol 2002;30:321-325
22. Sohn HJ, Jand GC, Rah HH, Lee KS. Occurrence of falcarinol (n-heptadeca-1,9-dien-4,6-diyn-3-ol) in the umbelliferous plants. J Korean Agric Chem Soc 1990; 33:120-124

Abstract

Immune Cell Activation and Co-X-irradiation Effect of *Eleutherococcus senticosus* Maxim Root

Hyoung-Cheol Kwon, M.D.*, Jeong-Seob Park[†] and Dong-Seong Choi, Ph.D.[‡]

*Department of Radiation Oncology and Institute for Medical Science, Medical School, Chonbuk National University, Jeonju, [†]Department of Herb Science, Iksan National College, Iksan, [‡]Department of Food Biotechnology, Woosuk University, Samrye, Korea

Purpose: This study was performed to investigate the effects of immune cell activation and the antitumor effect for the combination of treatment with X-irradiation and *Eleutherococcus senticosus* Maxim Root (ESMR) on mouse tumor cells.

Materials and Methods: ESMR (250g) was extracted with 80% methanol, concentrated under decompression and lyophilized. To determine whether ESMR is able to activate the immune cells or not, the proliferation of splenocytes *in vitro* and the number of B cells and T cells in splenic lymphocytes in ESMR-pretreated mice were evaluated. X-irradiation was given to the mouse fibrosarcoma tumor cells (FSa II) by 250 kv X-irradiation machine. The cytotoxicity of ESMR was evaluated from its ability to reduce the clonogenicity of FSa II cells. In X-irradiation alone group, each 2, 4, 6 and 8 Gy was given to FSa II cells. In X-irradiation with ESMR group, 0.2 mg/ml of ESMR was exposed to FSa II cells for 1 hour before X-irradiation.

Results: The proliferation of cultured mouse splenocytes and thymocytes were enhanced by the addition of ESMR *in vitro*. The number of B cells and T cells in mouse splenic lymphocytes was significantly increased in ESMR pretreated mice *in vivo*. In FSa II cells that received a combination of 0.2 mg/ml of ESMR with X-irradiation exposure, the survival fraction with a dose of 2, 4 and 6 Gy was 0.39 ± 0.005 , 0.22 ± 0.005 and 0.06 ± 0.007 , respectively. For FSa II cells treated with X-irradiation alone, the survival fraction with a dose of 2, 4 and 6 Gy was 0.76 ± 0.02 , 0.47 ± 0.008 and 0.37 ± 0.01 . The difference in the survival fraction of the mouse FSa II cells treated with and without ESMR was statistically significant ($p < 0.05$).

Conclusion: Treatment with ESMR increased cell viability of mouse splenocytes *in vitro* and especially the sub-population of B cells and T cells in splenocytes in ESMR-pretreated mice. However, treatment with ESMR did not increase the level of Th and Tc subpopulations in the thymocytes. Treatment with the combination of ESMR and X-irradiation was more cytotoxic to mouse tumor cells than treatment with X-irradiation alone; this finding was statistically significant.

Key Words: *Eleutherococcus senticosus*, Immunity, Cytotoxicity, X-irradiation