

5가지 (고들빼기, 돌미나리, 메밀, 툇, 생강) 혼합식품 물 추출물의 마우스 면역세포 활성화 효과

류혜숙* · 김정희** · 김현숙***§

상지대학교 이공대학 식품영양학과, * 숙명여자대학교 생활과학대학 식품영양학과**

Effects of Plant Water Extract Mixture *Ixeris Sonchifolia Hance*, *Oenanthejavanica*, *Fagopyrum Esculentum Moench*, *Hizikia Fusiforme*, *Zingiber Officinale Roscoe* on Mouse Immune Cell Activation Ex vivo

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

Department of Food and Nutrition, * Sangji University, Wonju 220-702, Korea
Major in Food & Nutrition, ** Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea

ABSTRACT

Ixeris sonchifolia Hance (Godulbaegi), *Oenanthe javanica* (Dolminari), *Fagopyrum esculentum* Moench (Buckwheat), *Hizikia fusiforme* (Seaweed Fusiforme) and *Zingiber officinale Roscoe* (Ginger) have been used respectively as one of folk remedies as well as food materials. However, reportedly few studies on their immunomodulating effects have been made, although it has been known from other preceding studies that the ex vivo supplementation of each *Ish*, *Oj*, *Fem*, *Hf*, *Zor* water extracts tends to enhance the proliferation of splenocyte in comparison to the control group. This study on the combined immunomodulative effect of water extract mixture of these five food materials (*Ish + Oj + Fem + Hf + Zor*) lasted covering seven or eight weeks. The old mice (balb/c) was fed ad libitum on chow diet, and the water extract of plant mixture was orally administrated every other day for four weeks at two different concentrations (50 and 500 mg/kg B.W). After preparing the single cell suspension, the proliferation of splenocyte was determined by MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-y]-2,5-diphenyl terazolium bromide) assay. The production of cytokine (IL-1 β , IL-6, and TNF- α) which was secreted by macrophages stimulated with LPS or not was detected by ELISA assay using the cytokine kit. After the 48 hours of incubation with the mitogen (ConA or LPS) stimulation, the proliferation of the mice splenocyte in the experimental group statistically increased at both of two different concentrations in comparison to the control group. The cytokines production was more significantly enhanced at the lower supplementation (50 mg/kg B.W.) group than at the higher concentration (500 mg/kg B.W.). The result of this study may suggest that the supplementation of water extract of plant mixture can regulate and enhance the immune function by increasing the splenocyte proliferation and regulating the cytokine production capacity by the activated macrophages in mice. (Korean J Nutr 2008; 41(2): 141~146)

KEY WORDS : mixture, splenocyte proliferation, IL-1 β , IL-6, TNF- α .

서 론

최근 예방 의학 차원에서 건강에 도움이 되는 천연 식품성분들을 공급하여 질병을 예방하고 최적의 건강을 유지하려는 노력이 증대되고 있다.^{1,2)} 식품의 기능을 단순한 영양소 공급에서 더 나아가 특정 생리기능의 증진 효과로 보는 관

접수일 : 2008년 1월 9일

채택일 : 2008년 3월 11일

§To whom correspondence should be addressed.

E-mail : rhs7420@hanmail.net

점이 증대되고 있는 것이다.^{3,4)} 이러한 연구의 일환으로 천연물질을 대상으로 항암성에 관한 검색이 시도되고 있으며,⁵⁾ 면역증진에 우수한 천연식품을 소재로 한 연구도 활발하게 이루어지고 있다.⁶⁾ 고들빼기 (*Ixeris sonchifolia Hance*; *Yonungia sonchifolia Maxim*), 돌미나리 (*Oenanthe javanica*), 메밀 (*Fagopyrum esculentum Moench*), 툇 (*Hizikia fusiforme*), 생강 (*Zingiber officinale Roscoe*)은 예로부터 널리 식용되어왔고, 현재까지 여러 음식에 이용되고 약용으로 사용되고 있는 천연 식물 자원이다. 고들빼기에 대해 보고된 연구는⁷⁾ 간 독성을 유발한 쥐에 고들빼기를 부위별로 급여

한바 간 손상으로 인한 체내 과산화지질의 생성을 억제하였다고 하였고, 고들빼기 추출물을 생쥐 복강 내에 주사하였을 때 혈청 콜레스테롤 농도가 감소되었다고 하였다.⁸⁾ 돌미나리에 대한 연구로는 돌미나리 추출물이 발암제에 의한 돌연변이 유발 실험에서 항돌연변이 효과를 나타냈다는 보고⁹⁾와 동물실험에서 메밀, 돌미나리 등이 세포 면역 기능을 강화시켰다는 연구^{10,11)} 결과가 있다. 메밀에 대한 또 다른 연구로는 발아 메밀 추출물의 항산화, 항균활성 효과와,¹²⁾ 메밀가수분해물의 항고혈압성, 항곰팡이 활성화효과가 알려져 있다.¹³⁾ 생강의 면역세포 증진 효과에 대한 연구도 보고된 바 있으며¹⁴⁾ 생강 첨가 된장을 투여한 쥐에서 우수한 종양세포 생성억제 작용을 가지는 것으로 나타나, 생강의 항암 효과에 대해 연구 보고되기도 하였다.¹⁵⁾ 톳에 대한 연구로도 면역세포 증진 효과와 항산화효소활성효과에 대한 연구결과가 보고된 바 있다.^{16,17)} 이러한 연구결과를 바탕으로 본 연구에서는 *ex vivo* 실험을 통해 5가지 각각의 식물을 혼합하였을 때의 면역활성 효과를 살펴보고자 4주간 경구 투여함으로써 이들 시료가 마우스 생체 내에서 면역능에 미치는 영향을 관찰하였다. 그 지표로 마우스의 비장세포 증식능, 활성화 복강대식세포에서 분비되는 사이토카인 (IL-1 β , IL-6, TNF- α) 생성량의 변화를 측정하여 혼합 (고들빼기, 돌미나리, 메밀, 톳, 생강) 추출물이 마우스 면역능에 미치는 영향을 연구하고자 하였다.

재료 및 방법

시료추출 및 실험동물

동결 건조된 혼합 (고들빼기, 돌미나리, 메밀, 톳, 생강) 시료를 증류수 또는 에탄올로 환류 냉각시키면서 80°C 수욕상에서 3시간씩 3회 반복 추출한 후 감압 농축하여 물 추출물과 에탄올 추출물을 얻어, 물 추출물을 경구 투여 시료로 이용하였다.

본 연구에 사용된 동물은 7~8주령 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 \pm 2°C, 습도는 40~60%로 유지하였고, 명암주기 (Light and dark cycle)는 12시간 단위로 조절하였다. *Ex vivo* 실험에서 혼합 (고들빼기, 돌미나리, 메밀, 톳, 생강) 추출물 투여는 혼합 물 추출물을 멸균 증류수로 용해시킨 후 적정 농도로 희석하여 사용하였다. 마우스를 임의 배치법에 의해 대조군과 투여군으로 나누었으며, 실험군마다 4마리씩 사용하였다. 대조군에는 생리 식염수

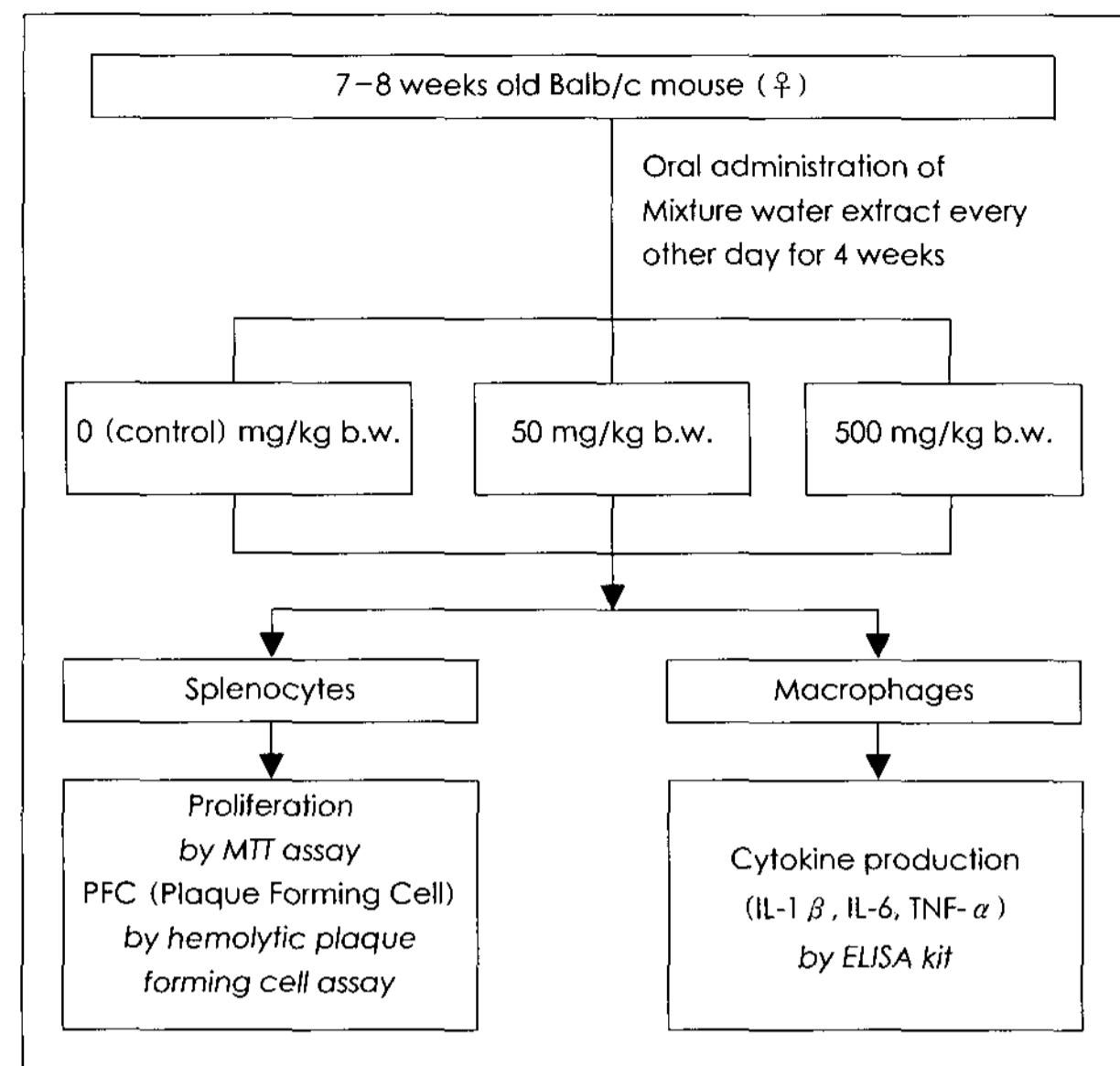


Fig. 1. Study design of *ex vivo* experiment.

를, 투여군에는 검액을 각각 50 mg/kg B.W./day과 500 mg/kg B.W./day씩 4주간 격일로 경구 투여하였다 (Fig. 1).

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.

마우스 비장세포의 분리 및 배양

마우스 비장세포의 분리는 Mishell 등¹⁸⁾의 방법에 의해 실행하였다. 경추 탈골법으로 희생시킨 마우스의 비장을 무균적으로 적출하여 RPMI 1640 용액으로 씻은 다음 멸균 유리병으로 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°C, 3,000 rpm에서 10분간 원심시킨 후 cell pellet을 lysing buffer (Tris-buffered ammonium chloride; 0.87% NH₄Cl, pH 7.2)에 5분간 현탁시켜 적혈구를 제거하였다. 위의 세포는 다시 RPMI로 2회 원심 세척한 다음, 10 %-FBS RPMI 1640으로 5.0 \times 10⁶ cell/ml의 농도로 희석하여 96-well plate에 90 μ l씩 분주한 후 세포

증식능 측정에 사용하였다.

비장세포 증식능 측정

각 군별로 마우스 비장세포 현탁액을 5.0×10^6 cell/ml 이 되도록 희석하여 96 well plate의 각 well에 90 μ 씩 분주하고 각 군당 mitogen으로 ConA (5 μ g/ml), LPS (15 μ g/ml)를 10 μ 씩 분주하고 대조군에는 배지를 동량으로 분주하였다. 각 plate는 37°C, 5% CO₂ incubator (Sanyo)에서 44시간 배양하여 MTT assay를 실시하였다. 배양후 MTT를 10 μ 가하고, 알루미늄 호일로 빛을 차단한 상태에서 4시간 동안 다시 배양한 후 formazan crystal 형성을 유도하였다. 4°C, 1,500 rpm에서 5분간 원심 분리하여 상층액을 제거하고 각 well에 150 μ 의 DMSO를 가하여 10분간 방치한 후 ELISA reader를 이용하여 540 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 마우스 비장세포의 증식능은 다음의 공식에 의해 계산되었다.

Proliferation Index =

Sample의 흡광도 / Control의 흡광도

사이토카인(IL-1 β , IL-6, TNF- α) 분비능 측정

식물혼합 (고들빼기, 돌미나리, 메밀, 톳, 생강) 추출물을 경구 투여한 마우스의 복강 내 대식세포를 추출하여 배양시킨 다음 배양 상층액으로부터 분비되는 사이토카인 (IL-1 β , IL-6, TNF- α) 분비량을 각각 측정하였다. 비부착성 세포를 제거하고 부착성 세포만을 얻은 후, 10%-FBS RPMI 1640 900 μ 와 대식세포를 활성화시키는 mitogen인 LPS와 배지를 100 μ 가한 후 37°C, 5% CO₂ incubator (Sanyo)에서 48시간 배양하였다. 배양 상층액을 분리하여 배양액에 축적된 IL-1 β , IL-6, TNF- α 의 양을 ELISA 사이토카인 kit (R&D system, USA)를 이용하여 측정하였다.

통계분석

모든 실험결과 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.

결 과

혼합 추출물의 경구투여가 마우스 면역기능에 미치는 영향

혼합 (고들빼기, 돌미나리, 메밀, 톳, 생강) 추출물의 경구투여가 마우스 비장세포 증식능, 복강 대식세포에서 분

비하는 사이토카인 (IL-1 β , IL-6, TNF- α) 생성량에 어떠한 영향을 미치는지 관찰함으로써¹⁹⁾ 생체 내에서 5가지 (고들빼기, 돌미나리, 메밀, 톳, 생강) 혼합 추출물의 면역활성 효과의 가능성을 확인하고자 하였다.

혼합 물 추출물의 경구투여가 마우스 비장세포 증식능에 미치는 영향

본 실험에서는 혼합시료의 물 추출물 경구투여가 마우스 비장세포 증식능에 미치는 영향을 검색하기 위한 지표로 MTT assay를 이용하여 비장세포 증식능을 측정하였다. 혼합 (고들빼기, 돌미나리, 메밀, 톳, 생강)시료의 추출물 비장세포 증식능의 결과는 Table 1에 나타내었다. 혼합 (고들빼기, 돌미나리, 메밀, 톳, 생강)시료의 물 추출물을 투여한 경우 마우스 체중 kg 당 50 mg/kg B.W.과 500 mg/kg B.W.의 농도 투여군에서 $1.54 \pm 0.21 \sim 1.10 \pm 0.14$ 로 대조군에 비해 증가를 나타냈다. 세포성 면역과 관련있는 T세포를 선택적으로 증식시키는 미토젠인 ConA 첨가시 50 mg/kg B.W.과 500 mg/kg B.W. 투여군에서 $2.94 \pm 0.21 \sim 2.73 \pm 0.06$ 로 대조군에 비해 높은 증식능을 보였다. 체액성 면역과 관련이 있는 B 세포를 선택적으로 증식시키는 미토젠인 LPS 첨가시에는 50 mg/kg B.W. 투여군에서 대조군에 비해 유의적으로 높은 증식능을 나타내었다. 특히 50 mg/kg B.W. 농도로 경구 투여한 군에서 높게 나타났다.

혼합 (고들빼기, 돌미나리, 메밀, 톳, 생강)시료의 물 추출물 경구투여와 사이토카인 분비능

본 실험에서는 혼합 (고들빼기, 돌미나리, 메밀, 톳, 생강)시료의 물 추출물을 마우스 체중 kg 당 50 mg/kg B.W.과 500 mg/kg B.W.의 농도로 경구 투여한 마우스로부터 복강 대식세포를 분리해 낸 다음 활성화된 대식세포가 생성해 낸 IL-1 β , IL-6, TNF- α 의 분비량을 측정하였고, 각 군별 양의 대조군으로는 LPS (15 μ g/ml)로 자극한 대식세

Table 1. Proliferation index of splenocytes of mice orally administered with water extracts of plant mixture* for 4 weeks

Conc. (mg/kg b.w.)	Proliferation index		
	Without mitogen	Con A	LPS
0	1 ^{bl)}	2.02 ± 0.88^b	2.21 ± 0.32^b
50	1.54 ± 0.21^a	2.94 ± 0.21^a	2.76 ± 0.31^a
500	1.10 ± 0.14^b	2.73 ± 0.06^a	2.49 ± 0.30^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) are significantly different from each other at $\alpha = 0.05$ as determined by Duncan's multiple range test ($a > b$).

*: *Ixeris sonchifolia* Hance, *Oenanthe javanica*, *Fagopyrum esculentum* Moench, *Hizikia fusiforme*, *Zingiber officinale* Roscoe

Table 2. IL-1 β production by activated peritoneal macrophages of mice orally administered with water extracts of plant mixture* for 4 weeks

Conc. (mg/kg b.w.)	IL-1 β production (pg/ml) ¹⁾	
	Without mitogen	LPS treated
0	63.98 \pm 29.12 ^{c2)3)}	325.40 \pm 91.12 ^b
50	133.84 \pm 30.18 ^a	601.12 \pm 35.15 ^a
500	90.12 \pm 22.12 ^b	507.68 \pm 90.12 ^a

1) Macrophages were incubated with or without (control) mixture water extracts for 48h.

2) The data present the mean values \pm S.D. n = 4 The different letters (a, b, c) within every mitogen groups are significantly different from each other at $\alpha = 0.05$ as determined by Duncan's multiple range test (a > b > c).

3) The cytokine concentrations were determined by triplicates cultured supernatant cells and values are mean \pm S.D.

*: *Ixeris sonchifolia* Hance, *Oenanthe javanica*, *Fagopyrum esculentum* Moench, *Hizikia fusiforme*, *Zingiber officinale* Roscoe

포의 배양 상층액에서 측정된 값을 이용하였다.

IL-1 β 분비량. 활성화된 대식세포의 지표로 세포배양액의 IL-1 β 의 함량을 ELISA 사이토카인 kit (Biosource, USA)를 이용하여 측정한 결과는 Table 2에 나타내었다. LPS로 처리하지 않은 경우 50 mg/kg B.W. (133.84 \pm 30.18 pg/ml) 농도에서 유의적으로 높은 IL-1 β 분비량을 보였고, 500 mg/kg B.W. 농도에서 90.12 \pm 22.12로 나타났다. LPS 처리한 경우에도 대조군 325.40 \pm 91.12에 비해 50 mg/kg B.W.의 농도에서 601.12 \pm 35.15, 500 mg/kg B.W. 농도에서 507.68 \pm 90.12로 유의적으로 높은 분비량을 보였다.

IL-6 분비량. 대식세포의 활성화에 대한 지표로 세포 배양액의 IL-6 분비량 결과는 Table 3에 나타내었다. LPS로 처리하지 않은 경우 50 mg/kg B.W.의 농도에서 97.09 \pm 12.82로 대조군 12.75 \pm 1.65 보다 높은 분비량을 보여주었고, 500 mg/kg B.W. 농도에서는 40.52 \pm 8.4로 대조군 보다 유의적으로 높으나, 50 mg/kg B.W.의 농도에서보다는 유의적으로 낮은 결과를 보여주었다. LPS 첨가시에도 50 mg/kg B.W. 농도군에서만 631.69 \pm 60.78 pg/ml로 대조군 257.52 \pm 60.12에 비해 유의적으로 높은 IL-6 분비량을 보였다.

TNF- α 분비량. 혼합시료의 추출물을 경구 투여 하였을 때 복강 대식세포 배양액의 TNF- α 분비량은 Table 4에 나타내었다. LPS로 처리하지 않은 경우 50 mg/kg B.W. (586.15 \pm 70.81 pg/ml)의 농도에서는 대조군 (210.00 \pm 60.12 pg/ml)보다 높은 분비를 보였고, 500 mg/kg B.W. 농도에서는 201.00 \pm 50.82 pg/ml로 대조군과 차이가 없었다. LPS 첨가시에도 50 mg/kg B.W. 농도군에서 1216.83 \pm 202.81 pg/ml로 대조군 (590.28 \pm 150.12 pg/ml)에

Table 3. IL-6 production by activated peritoneal macrophages of mice orally administered with water extracts of plant mixture* for 4 weeks

Conc. (mg/kg b.w.)	IL-6 production (pg/ml) ¹⁾	
	Without mitogen	LPS treated
0	12.75 \pm 1.65 ^{c2)3)}	257.52 \pm 60.12 ^b
50	97.09 \pm 12.82 ^a	631.69 \pm 60.78 ^a
500	40.52 \pm 8.4 ^b	301.00 \pm 40.12 ^b

1) Macrophage were incubated with or without (control) Mixture water extracts for 48h.

2) The data present the mean values \pm S.D. n = 4 The different letters (a, b, c) within every mitogen groups are significantly different from each other at $\alpha = 0.05$ as determined by Duncan's multiple range test (a > b > c).

3) The cytokine concentrations were determined by triplicates cultured supernatant cells and values are mean \pm S.D.

*: *Ixeris sonchifolia* Hance, *Oenanthe javanica*, *Fagopyrum esculentum* Moench, *Hizikia fusiforme*, *Zingiber officinale* Roscoe

Table 4. TNF- α production by activated peritoneal macrophages of mice orally administered with water extracts of plant mixture* for 4 weeks

Conc. (mg/kg b.w.)	TNF- α production (pg/ml) ¹⁾	
	Without mitogen	LPS treated
0	210.00 \pm 60.12 ^{b2)3)}	590.28 \pm 150.12 ^b
50	586.15 \pm 70.81 ^a	1216.83 \pm 202.81 ^a
500	201.01 \pm 50.82 ^b	866.23 \pm 127.5 ^a

1) Macrophage were incubated with or without (control) Mixture water extracts for 48h.

2) The data present the mean values \pm S.D. n = 4 The different letters (a, b) within every mitogen groups are significantly different from each other at $\alpha = 0.05$ as determined by Duncan's multiple range test (a > b).

3) The cytokine concentrations were determined by triplicates cultured supernatant cells and values are mean \pm S.D.

*: *Ixeris sonchifolia* Hance, *Oenanthe javanica*, *Fagopyrum esculentum* Moench, *Hizikia fusiforme*, *Zingiber officinale* Roscoe

비해 유의적으로 높은 분비량을 나타냈으며, 500 mg/kg B.W.의 농도에서는 866.23 \pm 127.5로 유의적인 차이는 없었다.

고 찰

혼합 물 추출물의 경구투여가 마우스 비장세포 증식능에 미치는 영향에 대한 연구 결과는 선행연구에서 실시된 수수 물 추출물의 경우에도 50 mg/kg B.W. 농도에서 가장 높은 증식을 보였으며²⁰⁾ 톳과 고들빼기의^{21,22)} 경우에도 50 mg/kg B.W. 농도 첨가군에서 유의적인 증가를 보여 본 연구와 유사한 결과를 나타내었다. 이와 같이 혼합 (고들빼기, 돌미나리, 메밀, 톳, 생강)시료의 추출물 경구 투여가 마우스 비장세포 증식능에 미치는 영향에 대한 연구 결과, 혼합 (고들빼기, 돌미나리, 메밀, 톳, 생강)시료의 추출물을 투여하지 않은 대조군에 비해 비장세포 증식이 촉진되었으

며 고농도보다 저농도에서 T세포와 B세포를 자극하여 비장세포 증식을 촉진시키는 것으로 사료되며 이로 인해 면역 효과를 기대할 수 있으리라 사료된다. 혼합 (고들빼기, 돌미나리, 메밀, 톳, 생강)시료의 물 추출물 경구투여와 사이토카인 분비능 연구에서 IL-1 β 분비량에 대한 결과는 선행연구로 수수²⁰⁾ 물 추출물의 4주 연구 결과와 일치하는 경향을 보였고, 고들빼기, 돌미나리²³⁾ 물 추출물의 경우도 같은 결과를 나타내었으며, 톳²¹⁾ 물 추출물의 2주 연구 결과와 일치하는 경향을 보였다. 느릅²⁴⁾ 열수 추출물을 경구 투여한 마우스의 복강 대식세포에서 IL-1 β 의 분비량을 측정 한 결과 대조군에 비해 유의적으로 증가한 것으로 나타났다. IL-1은 Th cell에 의한 IL-2, IL-4, IFN- γ 등의 분비를 유도시키고 B 림프구가 pre B 림프구로부터 성숙하는 단계와 항원자극에 의해 증식하는 단계에 직접 또는 Th cell 경유하여 작용함으로써 이들의 분화 및 증식을 촉진시킨다. 따라서 혼합시료의 추출물은 마우스 복강 대식세포를 활성화하여 IL-1 β 생성을 촉진시킴으로서 면역증강효과가 있을 것으로 사료된다. IL-6 분비량에 대한 연구의 결과는 수수²⁰⁾ 추출물 4주 경구 투여 실험의 50 mg/kg B.W. 농도군에서 유의적으로 높은 분비량을 보인 결과와 유사하다. 본 연구와 유사한 결과로 톳 물 추출물을 경구 투여하여 IL-6 분비량을 측정한 결과 50 mg/kg B.W. 농도군에서 최고치를 보인 것으로 나타났으며²¹⁾ 고들빼기¹¹⁾ 물 추출물의 경우도 50 mg/kg B.W. 농도에서 1040.48 \pm 6.72로 본 연구와 유사한 경향을 나타내었다. 메밀²⁵⁾의 연구에서도 50 mg/kg B.W. 농도에서 1301.15 \pm 6.83로 대조군에 비해 유의적으로 상승시켰다는 선행연구가 있었다. 본 실험의 LPS 처리시 혼합시료의 물 추출물 마우스 50 mg/kg B.W. 농도에서 가장 높은 IL-6 분비량 증가를 나타냈다. 따라서 혼합시료의 물 추출물이 마우스 복강 대식세포를 활성화시켜 IL-6의 분비를 촉진시킴으로서 면역기능 증강에 효과적으로 작용할 가능성이 있을 것으로 사료된다. TNF- α 분비량에 대한 결과는 고들빼기, 돌미나리의 연구에서²⁵⁾ 50 mg의 농도군에서 611.88 \pm 7.89, 726.53 \pm 6.51 pg/ml로 본 연구와 유사한 경향을 나타냈으며 톳²¹⁾의 물 추출물에서도 50 mg/kg B.W.의 농도군에서 최대 분비능을 나타내어 본 연구와 같은 결과를 나타내었다. 또한 생강 추출물과 탈지 들깨 물추출물을 식이로 첨가한 연구에서도 역시 LPS로 자극했을 때 유의적으로 높은 TNF- α 가 분비됨을 보고하였다.^{26) 28)} 따라서 본 실험 결과 혼합시료의 물 추출물을 경구 투여한 경우 50 mg/kg B.W. 실험군에서 대조군에 비해 유의적으로 높은 수준의 TNF- α 가 생성되며 따라서 혼합시료의 추출물은 마우스 복강 대식세포를 활성화하여 TNF-

α 생성을 촉진시킴으로서 면역증강효과가 있을 것으로 사료된다. 또한 앞에서 고찰한 여러 연구들에서와 같이 본 연구에서도 500 mg/kg B.W.의 농도보다 50 mg/kg B.W.의 농도에서 높은 면역세포 활성화효과를 나타내어 이는 식품으로 먹는 천연소재의 경우 고농도 보다는 50 mg/kg B.W.에서 효과가 있을 가능성을 제시하고 있다.

이상의 결과 각각의 시료로 면역효과를 나타낸 선행연구와 별 차이를 보이지 않았으며, 고들빼기, 돌미나리, 메밀, 톳, 생강 혼합시료의 추출물을 마우스에 경구 투여하였을 경우에도 활성화된 복강대식세포에서 염증성 사이토카인 IL-1 β , IL-6, TNF- α 분비량이 촉진되어, 혼합시료의 추출물 섭취에 의한 면역활성을 잠재적으로 가지고 있다가 외부 항원 침입시 혼합시료의 추출물이 면역세포의 활성화에 관여하여 면역기능을 향상시킬 것으로 기대된다.

요 약

생체 내 (*ex vivo*) 실험에서 혼합 (고들빼기, 돌미나리, 메밀, 톳, 생강)시료의 물 추출물을 4주간 격일로 마우스 체중 kg 당 0, 50, 500 mg/kg B.W.의 농도로 마우스에 경구 투여한 후 비장세포 증식능, LPS에 의해 활성화된 복강 대식세포가 분비하는 염증성 사이토카인 (IL-1 β , IL-6, TNF- α)의 생성량을 측정하였다. 그 결과 혼합시료의 물 추출물은 ConA나 LPS로 자극하지 않은 경우 50 mg/kg B.W. 농도에서 대조군에 비해 유의적으로 높은 비장 증식능을 보였다. LPS에 의해 활성화된 복강 대식세포의 사이토카인 분비량을 측정한 결과에서도 IL-1 β , IL-6, TNF- α 의 분비량은 마우스 체중 kg 당 50 mg/kg B.W. 농도의 투여군에서 높은 생성량을 보여주었으나, 500 mg/kg B.W.의 농도 투여군에서는 IL-6 분비량은 대조군에 비해 높은 반면 TNF- α 의 분비량은 큰 차이를 보이지 않았다. 이상의 결과에 따라 비장세포 증식능과 사이토카인 분비능을 검색한 결과 고들빼기, 돌미나리, 메밀, 톳, 생강을 혼합한 혼합시료의 추출물 50 mg/kg B.W. 농도 투여가 면역 세포와 면역 기관의 주요기능을 증진시킬 가능성이 있을 것으로 사료된다. 이러한 연구결과를 토대로 앞으로 혼합식을 통한 기능성 식품 개발에 기초 연구 자료가 될 것으로 기대된다.

Literature cited

- 1) Kim EJ, Ahn MS. Antioxidative effect of ginger extracts. *Korean J Food Sci technol* 1993; 9(1): 37-42
- 2) Hwang EJ, Cha YU, Park MH, Lee JW, Lee SY. Cytotoxicity and chemosensitizing effect of camelia tea extract. *J Korean Soc*

- Food Sci Nutr* 2004; 33: 487-493
- 3) Arai S. Studies on function foods in Japan-state of Art. *Biosci Biotechnol Biochem* 1996; 60: 9-15
 - 4) Kang DH, Lee SK, Kyng HR. Separation of phospholipids from soybean by NP-HPLC with ELSD. *Korean J Chem Eng* 2002; 19 (5): 818-820
 - 5) Cheng GC, Lee JY, Kim DC, Suh SO, Hwang WI. Inhibitory effects of salvia miltiorrhiza extract on growth of some cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2000; 29: 726-731
 - 6) Ji WD, Jeong HC, Lee SJ, Chun YG. Antimicrobial activity and distilled components of garlic and ginger. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 1997; 40: 514-518
 - 7) Bae SJ, Kim NI, Koh JB, Roh SB, Jung BM. Effect of godul-baegi diets on enzyme activities of CCL₄ induced hepatotoxicity in rats. *Korean J Nutr* 1997; 30(1): 19-24
 - 8) Young HS, Suh SS, Lee KH, Choi JS. The pharmaco-chemical study on the plant of ixeris spp. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 1992; 21: 291
 - 9) Han KS, Cheong EH, Ham SS, Shim TH, Lee TS, Lee HK. Antimutagenicity of small water dropwort juice on the microbial mutagenicity induced by 2-aminofluorene. *J Fd Hyg Safety* 1993; 8(4): 225-230
 - 10) Kim GH, Jang MW, Park GY, Lee SH, Ryu TH, Sunwoo YK. Effects of small water dropwort extract on cellular immune response of mice. *J Bacteriol Virol* 1993; 28(5): 419-430
 - 11) Park HA. Enhancing effect of *Ixeris sonchifolia* hance *Oenanthe javanica*, and *Fagopyrum esculentum* Moench on mouse immune cell activation. Master's degree thesis. Seoul: Sookmyung Women's University; 2003
 - 12) Hwang EJ, Lee SY, Kwon SJ, Park MH, Boo HO. Antioxidative, antimicrobial and cytotoxic activities of fagopyrum esculentum moench extract in Germinated Seeds. *Korean J Medicinal Crop Sci* 2006; 14(1): 1-7
 - 13) Do JR, Heo IS, Back SY. Antihypertensive, antimicrobial and antifungal activities of buckwheat hydrolysate. *Korean J Food Sci Technol* 2006; 38(2): 268-272
 - 14) Ryu HS, Kim HS. Effects of Job's Tear extracts on mouse immune cell activation. *J Korean Diet Assoc* 2005; 11(1): 44-50
 - 15) Park KY, Lee SJ, Lee KI, Rhee SH. The antitumor effect in sarcoma-180 tumor cell of mice of mice administered with japanese apricot, garlic ginger doenjang. *Korean J Food Cookery Sci* 2005; 21(5): 599-606
 - 16) Jung YH. Effect of Hizikia fusiforme water extracts on mouse immune cell activation [dissertation]. Seoul: Sookmyung Women's University; 2003
 - 17) Ko MS, Shin KM, Lee MY. Effects of Hizikia fusiforme ethanol extract on antioxidative enzymes in ethanol induced hepatotoxicity of rat liver. *J Korean Soc Food Sci Nutri* 2002; 31(1): 87-91
 - 18) Mishell BB, Shiigi SM. Selected methods in cellular immunology. 1st ed. Sanfrancisco; W.H. Freeman and company; 1980. p.4-27
 - 19) Ryu HS, Kim JH, Kim HS. Effects of a plant water extract mixture (*Ixeris sonchifolia* hance, *oenanthejavanica*, *fagopyrum esculentum* moench, *hizikia fusiforme*, *zingiber officinale* roscoe) on mouse immune cell activation. *Korean J Food & Nutr* 2007; 40(7): 639-649
 - 20) Ryu HS, Kim HS. Effect of *sorghum bicolor* L. moench (*sorghum*, *su-su*) water extracts on mouse immune cell activation. *Korean J Food & Nutr* 2006; 19(2): 176-182
 - 21) Ryu HS, Jung YH, Kim HS. Effect of Hizikia fusiforme water extracts on mouse immune cell activation. *Korean J Nutr* 2007; 40(7): 639-649
 - 22) Kim SH. Effect of *Phlomis umbrosa Turcz* ethanol extract on mouse splenocyte proliferation and cytokine production by activated peritoneal. Master's degree thesis. Seoul: Sookmyung Women's University; 2001
 - 23) Park HR, Kim SH, Yee ST, Byun MW, Jo SK. Effect of a herb mixture (Him-1) on the protection of the hematopoietic immune system and self-renewal tissues against radiation damage. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2005; 34(5): 605-612
 - 24) Lee YS, Ryu HS, Kim HS. Effects of elm bark (*Ulmus davidiana* var. japonica) extracts on modulation of immunocompetence in mice. *J Med Food* 2007; 10(1): 118-125
 - 25) Kim SH. Effect of *phlomis umbrosa turcz* ethanol extract on mouse splenocyte proliferation and cytokine production by activated peritoneal. Master's degree thesis. Seoul: Sookmyung Women's University; 2003
 - 26) Ramunans Z, Robert HB, Max L, Paricia JM. *In vivo* effect of chronic treatment with (met5)-enkephalin on hematological values and natural killer cell activity in athymic mice. *Life Sci* 2000; 66(9): 829-834
 - 27) Ryu HS, Kim HS. Enhancing Effects of Ginger (*zingiber officinale* Roscoe) extracts on mouse spleen and macrophage cells activation. *Korean J Nutr* 2004; 37(9): 780-785
 - 28) Kim JH. Effects of Plant water Extract Mixture of (*Ixeris sonchifolia* Hance, *Oenanthejavanica*, *Fagopyrum esculentum* Moench, *Hizikia fusiforme*, *Zingiber officinale* Roscoe) on Mouse Immune Cell Activation. Master's degree thesis. Seoul: Sookmyung Women's University; 2005