

## 솔잎, 돌나물, 톳, 메밀, 깻잎 등 5가지 혼합 열수 추출물의 면역 활성화 효과

류혜숙 · \*김현숙\*

상지대학교 보건과학대학 식품영양학과, \*숙명여자대학교 생활과학대학 식품영양학과

### Studies on the Effects of Water Extract from Mixture of Pine Needles, *Sedum sarmentosum* Bunge, Hijkiaorme, Buckwheat and Perlla Leaves on the Immune Function Activation

Hye-Sook Ryu and \*Hyun-Sook Kim\*

Dept. of Food and Nutrition, College of Health Sciences, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

\*Major in Food & Nutrition, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea

#### Abstract

Plants have long been used as a food source in Korea. In this study, we investigated the combined immunomodulative effects of a water extract mixture of(pine needles, *Sedum sarmentosum* Bunge, hijkiaorme, buckwheat and Perlla leaves) on Balb/c mice 7~8 weeks old. The mice were fed a chow diet *ad libitum* and the plant extract was orally administered every other day for four weeks at two different concentrations(50 and 500 mg/kg BW). After preparing the single-cell suspension, splenocyte proliferation was determined by the MTT(3-[4,5-di-methylthiazol-2-y]-2,5-diphenyl terazolium bromide) assay. After 48hrs of incubation with the mitogens(ConA or LPS) splenocyte from the mice groups administered 50 and 500 mg/kg BW of the plant extract showed a significant increased in proliferation compared to the control group. A hemolytic plague forming cell assay was used to indicate antibody production against sheep red blood cells(SRBC). The number of antibody-secreting cells T-dependent antigen. The result of this study suggest that supplementation with this plant extract may regulate immune function by increasing splenocyte proliferation and the number of plaque forming cells.

Key words: mixture, splenocyte proliferation, SRBC, immune.

#### 서론

천연 식품의 다양한 생리 활성 작용에 대한 연구들이 보고되면서 천연 식품 중 특정 생리 활성 물질의 효능에 많은 관심이 증대되고 있다<sup>1,2)</sup>. 특히 천연 식품을 이용한 면역 작용 연구에 대한 관심이 부각되고 있다<sup>3,4)</sup>. 최근 이러한 연구로 메밀, 돌미나리 등이 세포 면역 증진 효과에 관한 연구 보고<sup>5,6)</sup>가 있으며, 생강 첨가 된장을 투여한 쥐에서 우수한 종양세포 생성 억제 작용을 가지는 것으로 나타나, 생강의 항암 효과에 대한 연구와 생강 추출물 투여가 마우스 면역세포 활성을 증

진시켰다고 보고되기도 하였다<sup>7,8)</sup>. 또한, 톳의 면역세포 증진 효과와 항산화 효소 활성 효과에 대한 연구가 보고된 바 있다<sup>9,10)</sup>. 식물 혼합을 이용한 면역 증진 효과에 관한 연구로는 고들빼기, 돌미나리, 메밀, 톳, 생강을 혼합한 혼합시료의 추출물 50 mg/kg BW 농도 투여가 면역 세포와 면역 기관의 주요 기능을 증진시킬 가능성을 제시한 보고가 있다<sup>11,12)</sup>. 본 연구에서 솔잎, 돌나물, 톳, 메밀, 깻잎 식물 혼합의 면역 활성화에 대해 보고자 한 돌나물 연구 동향으로는 돌나물의 지질 과산화 및 항산화 효과에 대한 보고가 있으며<sup>13)</sup>, 깻잎의 에탄올이 추출물이 흰쥐의 지방대사와 항산화 작용에 기여하는 것으

† Corresponding author: Hyun-Sook Kim, Major in Food & Nutrition, Sookmyung Women's University, Chungph-dong 2-ka, Yongsan-ku, Seoul 140-742, Korea.

Tel: +82-2-710-9469, Fax: +82-2-707-0195, E-mail: rhs7420@hanmail.net

로 알려져 있다<sup>14)</sup>. 또 발아 메밀 추출물의 항균 활성 효과와 메밀의 면역세포 증식효과가 보고된 바 있으며<sup>15,16)</sup>, 솔잎 연구에 관한 것으로는 항산화 효과와 과산화 지질 억제 효과와<sup>17,18)</sup> 솔잎 추출물의 면역세포 활성 효과가 알려져 있다<sup>19,20)</sup>. 본 연구에서는 다섯 가지(솔잎, 돌나물, 톳, 메밀, 깻잎) 식물 혼합물 추출물의 면역 활성 효과를 연구하고자 비장 증식능과 항체 생성능을 주요 지표로 보고자 하였다. 비장은 초기 면역 반응을 담당하고 있는 주요한 기관으로 알려져 있으며<sup>21)</sup>, 체액성 면역 반응은 주로 박테리아나 바이러스, 그리고 단백질과 같은 외부 물질에 대해 효과적이다. 이러한 이중 방어 체계는 B 세포와 T 세포의 두 종류의 lymphoid cell에 의해 수행되는데, B 세포는 항체를 생산하며, T 세포는 세포성 면역 반응에 직접 가담하고 있다<sup>22)</sup>. 또 항체를 생성할 수 있는 세포가 항원과 접촉하여 IgM 항체를 방출하고 방출된 항체가 항원 및 보체와 결합한 용혈반(plaque) 수를 측정하여 B 세포의 항체 생성능을 관찰하는 방법을 이용한<sup>23)</sup> 항체 생성능 연구 등이 면역능에 영향을 보고자 하는 연구에 많이 이루어지고 있다. 따라서 본 연구의 *ex vivo* 실험에서는 마우스에 2주, 4주간 격일로 식물 혼합물을 경구 투여한 후 마우스 비장세포 증식능과 항체 생성능을 통한 수수의 면역 활성 효과를 연구하고자 하였다.

## 실험 재료 및 방법

### 1. 시료 추출 및 실험동물

동결 건조된 혼합(솔잎, 돌나물, 톳, 메밀, 깻잎) 시료를 증류수 또는 에탄올로 환류 냉각시키면서 80°C 수욕상에서 3시간씩 3회 반복 추출한 후 감압 농축하여 얻은 물 추출물을 경구 투여 시료로 이용하였다. 본 연구에 사용된 동물은 7~8주령된 암컷 Balb/c mouse를 (주)대한실험동물센터로부터 분양 받아 고형 사료와 물을 자유로이 공급하면서 7~8일 정도 실험 동물실에서 적응시킨 후 체중이 15 g 내외인 마우스를 실험에 사용하였다. 실험 동물실 온도는 22±2°C, 습도는 40~60%로 유지하였고, 명암 주기(Light and dark cycle)는 12시간 단위로 조절하였다. *Ex vivo* 실험에서 혼합(솔잎, 돌나물, 톳, 메밀, 깻잎) 추출물 투여는 혼합물 추출물을 멸균 증류수로 용해시킨 후 적정 농도로 희석하여 사용하였다. 마우스를 임의 배치법에 의해 대조군과 투여군으로 나누었으며, 실험군마다 4마리씩 사용하였다. 대조군에는 생리 식염수를, 투여군에는 검액을 각각 50 mg/kg BW/day과 500 mg/kg BW/day씩 2주, 4주간 격일로 경구 투여하였다

### 2. 시약 및 배지

본 연구에 사용된 배지는 GIBCO BRL(Grand Island, NY, USA) 제품의 RPMI medium 1640를 사용하였고, fetal bovine

serum(FBS), lipopolysaccharide(LPS), thioglycollate, sodium bicarbonate, ammonium chloride, TRIZMA<sup>®</sup>base, TRIZMA<sup>®</sup>hydrochloride, trypan blue solution(0.4%), DMSO(dimethyl sulfide), 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide(MTT) 등의 시약은 Sigma(St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였다.

### 3. 비장세포 증식능 측정

각 군별로 마우스 비장세포 현탁액을 5.0×10<sup>6</sup> cell/ml가 되도록 희석하여 96-well plate에 90 μl씩 분주하였다. 각 군당 양의 대조군으로 Con A(5 μg/ml), LPS(15 μg/ml)를 10 μl씩 분주하고, 대조군에는 10% FBS-RPMI를 동량 분주하였다. 그 후 각 plate는 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator(Sanyo)에서 44시간 배양하여 MTT assay를 실시하였다. 배양 후 MTT 10 μl를 가하고, 알루미늄 호일로 빛을 차단한 상태에서 4시간 동안 다시 배양한 후 formazan crystal 형성을 유도하였다. 이와 같이 준비된 plate를 4°C, 1,500 rpm에서 5분간 원심분리하여 상층액을 제거하고 각 well에 150 μl의 DMSO를 가하여 10분간 방치한 후 ELISA reader를 이용하여 540 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 마우스 비장세포의 증식능은 다음과 같이 계산되었다.

Proliferation Index=Sample의 흡광도/Control의 흡광도

### 4. 비장세포 중의 IgM 항체 생성 세포수 측정

비장세포의 IgM 항체 생성 세포 수(plaque forming cell; PFC)를 측정하기 위한 항원으로, 한국 유니온 랩에서 구입한 면양 적혈구(sheep red blood cell, SRBC)를 4°C에서 보관하여 2주일 이내에 사용하였다. 사용 직전 PBS 용액으로 3회 원심 세척(2500 rpm, 5 min., 4°C)한 후, 면양 적혈구(sheep red blood cell, SRBC) 농도가 2×10<sup>9</sup> cell/ml가 되도록 PBS 용액으로 조정하여 이 부유액 0.2 ml를 실험 4일 전에 모든 실험군의 마우스 복강내에 주사하였다. 비장세포 현탁액을 면역일로부터 4일 후에 실험동물군의 비장을 적출하여 빙냉의 RPMI 1640에 넣고 teflon pestle을 이용하여 200 mesh stainless sieve를 통과시키고, 이 세포액에 RBC lysis buffer를 가한 후 원심분리(3,000 rpm, 10 min, 4°C)하여 적혈구를 용혈시킨 후 상층액을 제거하였다. 침전된 비장세포에 일정액의 RPMI 1640 용액을 가하여 viable cell을 trypan blue exclusin method (Mischell & Shiigi, 1980)로 측정하여 1×10<sup>6</sup> cells/ml의 비장세포 현탁액을 만들었다. SRBC 부유액은 냉장 보관된 면양 혈액을 사용 직전에 RPMI 1640 용액으로 3회 원심 세척(2,500 rpm, 5 min, 4°C)한 후 5×10<sup>9</sup> cells/ml의 농도로 부유시켜 만들었다. SRBC 부유액(5×10<sup>9</sup> cells/ml) 0.5 ml, guinea pig complement 0.3 ml, 10%의 불활성화된 FBS를 함유한 RPMI 1640

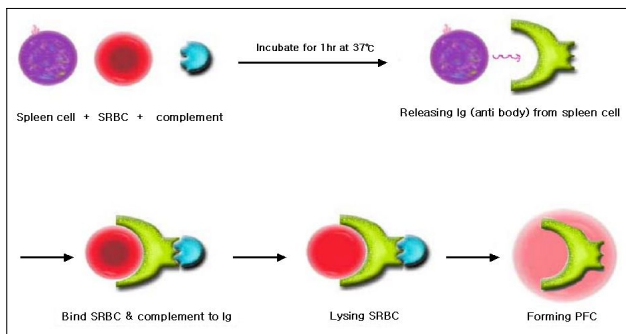


Fig. 1. Process of plaque forming cell.

용액 2.0 ml를 혼합하였다. 이 혼합액 0.5 ml와 비장세포 현탁액( $1 \times 10^6$  cells/ml) 50  $\mu$ l를 혼합하여 microchamber에 35  $\mu$ l씩 주입하고 vaseline과 paraffin(1:1) 혼합액으로 밀봉하여 incubator에 1시간 방치한 후 형성되는 항체 생성 세포수를 현미경하에서 측정하였다. 측정된 PFC 수를 비장세포  $10^6$  개 중의 IgM 항체 생성 세포수로 환산하여 나타내었다 (Fig. 1).

$$\text{PFC}/10^6 \text{ splenocytes} = (\text{N}_{\text{plaque}} / \text{C}_{\text{spleen}} \times \text{V}_{\text{mixture}} \times \text{A}) \times 10^6$$

A : 1 (incubation mixture 중의 splenocyte suspension의 비율)  
 $\text{N}_{\text{plaque}}$ : the number of plaque observed in a microchamber  
 $\text{C}_{\text{spleen}}$ : the count of splenocytes in 1 ml of splenocyte suspension  
 $\text{V}_{\text{mixture}}$ : volume of incubation mixture filled into microchamber

## 5. 통계분석

모든 연구 결과의 자료는 통계 프로그램인 SAS(Statistic Analysis System, ver. 12.0)를 이용하여 평균 및 표준편차를 계산하였으며, 군간의 비교에서 각각의 요인은 분산분석(Analysis of Variance, ANOVA)을 사용하였고, Duncan's multiple range test로  $p=0.05$  수준에서 유의성을 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. In vitro 실험에서의 혼합 추출물의 마우스 비장세포 증식능에 미치는 영향

혼합 추출물과 에탄올 추출물의 첨가가 비장세포 증식능에 미치는 영향에 대한 검색 결과 Fig. 2와 같다. 혼합 추출물을 첨가하여 배양한 경우 농도 10, 50, 100, 250, 500, 1,000  $\mu$ g/ml에서 각각  $1.494 \pm 0.14$ ,  $1.161 \pm 0.11$ ,  $1.177 \pm 0.18$ ,  $1.150 \pm 0.14$ ,  $1.076 \pm 0.07$ ,  $1.363 \pm 0.04$ 로, 고농도에서 효과를 보였다. 에탄올 추출물을 첨가하여 배양한 경우 농도 50, 100  $\mu$ g/ml에서  $1.233 \pm 0.12$ ,  $1.358 \pm 1.01$ 로 높게 나타났으나, 250, 500, 1,000  $\mu$ g/ml에서 각각  $1.035 \pm 0.13$ ,  $0.079 \pm 0.02$ ,  $0.043 \pm 0.07$ 로 500  $\mu$ g/ml, 1,000

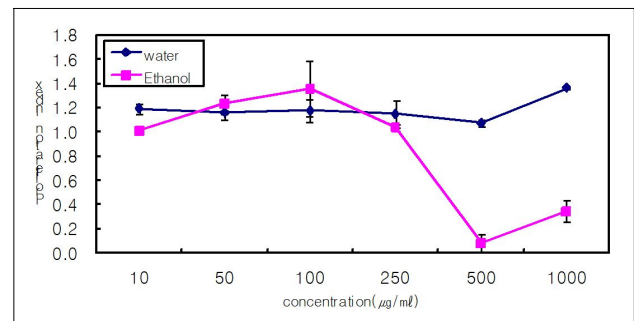


Fig. 2. Proliferation index of mice splenocyte cultured with water or ethanol extracts of plant mixture\* and mitogens.

Spleen cells ( $5 \times 10^6$  cell/ml) were cultured with water or ethanol extracts of pine needles, *Sedum sarmentosum* Bunge, *Hijikiaorme*, buckwheat and perilla leaves on 96-well flat bottomed plates for 48hrs. After culture, degree of splenocyte proliferation was measured by the MTT assay,

\* Pine needles, *Sedum sarmentosum* Bunge, *Hijikiaorme*, buckwheat and perilla leaves.

$\mu$ g/ml의 고농도에서는 효과가 떨어지는 경향을 보여주어 지나치게 고 농도의 투여는 오히려 해로운 영향을 줄 가능성을 제시하고 있다. 생강 물 추출물 첨가군의 경우 50~500  $\mu$ g/ml에서 유의적인 증식능을 나타냈으며<sup>27)</sup>, 고들빼기 물 추출물에서 100, 250, 500  $\mu$ g/ml 농도에서 유의적인 증식능을 나타낸<sup>16)</sup> 연구결과가 있다. 따라서 식물 혼합물 추출물 10~1,000  $\mu$ g/ml 농도 전체적으로 증식 효과가 있을 것으로 보여지며, 특히 고농도에서 비장세포의 활성을 촉진시키거나 면역 반응을 증가시킬 수 있는 면역 활성화 효과가 있을 것으로 사료된다.

### 2. 혼합 추출물의 경구 투여가 마우스 비장세포 증식능에 미치는 영향(ex vivo)

혼합 추출물을 4주 동안 투여한 경우 50 mg/kg BW/day과 500 mg/kg BW/day 투여군에서 Con A 첨가시 두 농도 모두 대조군에 비해 각각  $3.58 \pm 0.23$ ,  $4.23 \pm 0.01$ 로 비장세포 증식이 유의적으로 높았다. 한편, 체액성 면역과 관련이 있는 B세포를 선택적으로 증식시키는 mitogen인 LPS 첨가시 50 mg/kg BW/day과 500 mg/kg BW/day 투여군에서도 각각  $2.74 \pm 0.62$ ,  $2.98 \pm 0.39$ 로 대조군보다 높은 증식능을 보였다. 다른 비장세포 증식능 연구에 따르면 생강 물 추출물을 4주 투여한 경우 50 mg/kg BW/day과 500 mg/kg BW/day 투여군에서  $1.52 \pm 0.68$ 과  $2.40 \pm 0.71$ 로 대조군에 비해 증식능 증가를 나타낸 보고가 있다<sup>27)</sup>. 반면, 톳의 물 추출물에서는 50 mg/kg BW의 농도군에서 최대 분비능을 나타내어 혼합 형태의 결과와는 차이를 보여주었다<sup>28)</sup>.

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

Proliferation index			
Conc. (mg/kg BW)	Without mitogen	Con A	LPS
0	1	3.13±0.98 <sup>b</sup>	2.00±0.22 <sup>b</sup>
50	1.34±0.41	3.58±0.23 <sup>ab</sup>	2.74±0.62 <sup>a</sup>
500	1.45±0.84	4.23±0.01 <sup>a</sup>	2.98±0.39 <sup>a</sup>

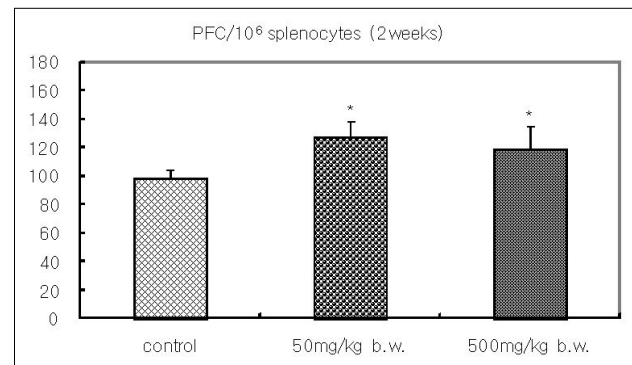
<sup>1)</sup> Proliferation index=mean of OD in test wells/mean of OD in control wells,

<sup>2)</sup> 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),

\* Pine needles, *Sedum sarmentosum* Bunge, Hijikiaorme, buckwheat and perlla leaves.

### 3. 혼합 추출물의 경구 투여가 마우스 비장세포 중의 IgM 항체 생성 세포수에 미치는 영향

혼합 추출물의 경구 투여에 의해 마우스 비장세포가 면양 적혈구(sheep red blood cell: SRBC) 항원에 대한 일차 체액성 면역 반응(primary humoral immune response)에 어떠한 영향을 미치는지를 알아보기 위한 방법으로 비장세포 중의 IgM 항체 생성 세포수를 측정하였다. 이는 항체를 생성할 수 있는 세포가 항원과 접촉하여 IgM 항체를 방출하고 방출된 항체가 항원 및 보체와 결합하여 용혈 현상을 일으키는 것을 이용한다. 즉, 마우스를 SRBC로 면역시킨 후 비장세포를 취하여 항원(SRBC) 및 보체와 반응시키고 이때 생성되는 항체(plaque)의 수를 측정하여 B 세포의 항체 생성능을 관찰하는 방법이다<sup>29)</sup>. IgM 항체 생성 세포수는 SRBC로 1차 면역 후 4일째 최고에 도달하므로 항원 주사 후 4일째에 비장세포 중의 PFC (plaque forming cell) 수를 측정하였다<sup>30)</sup>. 그 결과는 Fig. 3과 Fig. 4에 나타내었다. 2주 동안 혼합 추출물을 투여한 경우 비장세포 10<sup>6</sup>개당 PFC 수는 50 mg/kg BW와 500 mg/kg BW의 농도에서 각각 153.33±11.55, 151.66±103.11로 대조군(116.23± 74)에 비해 유의적으로 증가하였고( $p<0.05$ ) 특히, 50 mg/kg BW의 농도에서 높은 수준으로 증가하였다. 4주 동안 혼합 추출물을 투여한 경우에도 비장세포 10<sup>6</sup>개당 PFC 수가 50 mg/kg BW와 500 mg/kg BW의 농도 모두에서 각각 143.39±103.21, 147.66±98.21로 대조군(121.23±79.67)보다 유의적으로 증가하였으며( $p<0.05$ ), 500 mg/kg BW의 농도에서 더 높은 증가 수준을 보여 주었다. 또한, 4주 투여군보다 2주 투여군에서 높은 증가 수준을 보여주어 단기간에 더 효과를 나타내었으며, 50 mg/kg BW와 500 mg/kg BW의 농도 간 차이는 크게 보



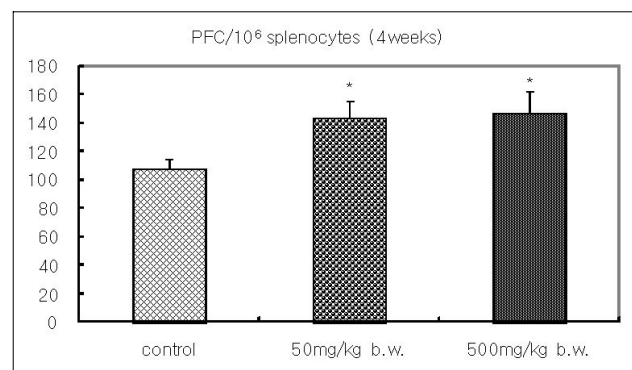
**Fig. 3. The plaque forming cell number of mice orally administered with different levels of plant mixture\* water extracts for 2 weeks.**

Spleen cells( $5 \times 10^6$  cells/ml) were cultured with fraction of the extract on 96-well flat bottomed plates for 48 hrs. After cultured, the degree of Impocyte proliferation was measured by MTT assay. The data present the mean values±SD of three experiments,

The data present the mean values±SD n=6,

\* Significant difference from control at  $p=0.05$ ,

\* Pine needles, *Sedum sarmentosum* Bunge, Hijikiaorme, buckwheat and perlla leaves.



**Fig. 4. The plaque forming cell number of mice orally administered with different levels of plant mixture\* water extracts for 4 weeks.**

Spleen cells( $5 \times 10^6$  cells/ml) were cultured with fraction of the extract on 96-well flat bottomed plates for 48 hrs. After cultured, the degree of Impocyte proliferation was measured by MTT assay. The data present the mean values±SD of three experiments,

The data present the mean values±SD n=6,

\* Significant difference from control at  $p=0.05$ ,

\* Pine needles, *Sedum sarmentosum* Bunge, Hijikiaorme, buckwheat and perlla leaves.

이지 않았다. 관련 다른 연구에 따르면<sup>31)</sup> 우황이 B 림프구의 항체 생성능에 미치는 실험에서 단기인 3일 투여군에서 실험군보다 유의성 있게 PFC 수가 증가하였다는 보고가 있다. 동일한 시료의 연구 결과는 아니지만 메밀 추출물을 50, 500 mg/kg BW/day 투여한 연구 결과에서도 대조군에 비해 유의적으로 높은 항체 생성능을 나타내었다<sup>16)</sup>. 따라서 본 연구에서도 혼합 추출물의 투여가 T 세포 의존성 항원인 SRBC에 대한 일차 체액성 면역 반응을 활성화시켜 면역 기능을 향상시킬 가능성이 있을 것으로 사료된다.

## 요약 및 결론

본 연구에서는 혼합 추출물로부터 면역 증강 효과를 알아 보고자 마우스를 이용하여 *in vitro*와 *ex vivo*를 통해 혼합 추출물이 면역세포활성에 미치는 영향을 살펴보고자 4주간 격일로 대조군에는 생리식염수를, 실험군에는 물 추출물 50, 500 mg/kg BW/day 농도로 경구 투여하여 관찰하였다. 비장세포 증식능 실험에서 Con A와 LPS 처리시 대조군에 비해 혼합 추출물에서 50 mg/kg BW/day와 500 mg/kg B.W./day 농도 모두에서 비장세포 증식이 유의적으로 높았다. T 세포의 활성으로 B 세포의 항체 생성에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위해 PFC 2주, 4주간 실험한 결과, 대조군에 비해 모든 처리군에서 높은 증가를 보였다. 농도간 큰 차이는 보이지 않았으나, 2주에서는 50 mg/kg BW/day의 농도, 4주에서는 500 mg/kg BW/day의 농도에서 높게 나타났다. 따라서 비장세포 증식능과 PFC 실험 결과 혼합 추출물이 T 림프구를 자극하여 B 림프구를 활성화시켜 항체 생성을 증가시키는 것으로 생각되어진다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 혼합 추출물의 경구 투여가 비장세포 증식과 항체 생성능을 상승시킴으로써 면역기관의 주요 기능을 증진시킬 가능성이 있을 것으로 사료된다.

## 참고문헌

1. Arai, S. Studies on function foods in Japan-state of art. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 60:9-15. 1996
2. Kim, HP, Son, KH and Kang, SS. Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *J. Pharmacological Sci.* 96:229-245. 2004
3. Park, JS and Chyun, JH. Effects of low fat diet and saturated fat supplementation on the immune status of BALB/c mouse. *Kor. J. Nutr.* 26:578-585. 1993
4. Wagner, H. Search for plant derived natural products with immunostimulatory activity. *Pure & Appl. Chem.* 7:1271-2178. 1990
5. Kim, GH and Sunwoo, YK. Effects of small water dropwort extract on cellular immune response of mice. *J. Bacteriol. Virol.* 28:419-430. 1993
6. Park, HA. Enhancing effect of *Ixeris sonchifolia* Hance, *Oenanthe javanica*, and *Fagopyrum esculentum* Moench on mouse immune cell activation. MS. Thesis, Sookmyung Women's Uni., Seoul. Korea. 2003
7. Ryu, HS and Kim, HS. Effects of job's tear extracts on mouse immune cell activation. *J. Kor. Diet Assoc.* 11:44-50. 2005
8. Park, KY and Rhee, SH. The antitumor effect in sarcoma-180 tumor cell of mice of mice administered with Japanese apricot, garlic ginger *doenjang*. *J. Kor. Food. Cookery Sci.* 21:599-606. 2005
9. Yun, HJ. Effect of *Hizikia fusiforme* water extracts on mouse immune cell activation. MS. Thesis, Sookmyung Women's Uni., Seoul. 2003
10. Ko, MS, Shin, KM and Lee, MY. Effects of *Hizikia fusiforme* ethanol extract on antioxidative enzymes in ethanol induced hepatotoxicity of rat liver. *J. Kor. Soc. Food. Sci. Nutr.* 31:87-91. 2002
11. Ryu, HS and Kim, HS. Effects of plant water extract mixture *Ixeris sonchifolia* Hance, *Oenanthe javanica*, *Fagopyrum esculentum* Moench, *Hizikia fusiforme*, *Zingibe officinale* Roscoe on mouse immune cell activation *ex vivo*. *Kor. J. Nutr.* 41:141-146. 2008
12. Ryu, HS, Kim, JH, Kim, HS. Effects of a plant water extract mixture(*Ixeris sonchifolia* Hance, *Oenanthe javanica*, *Fagopyrum esculentum* Moench, *Hizikia fusiforme*, *Zingiber officinale* Roscoe) on mouse immune cell activation. *Kor. J. Food Nutr.* 40:639-649. 2007
13. Kim, OK. The effects of sedum sarmentosum bunge extract using super critical carbon dioxide on lipid metabolism, lipid peroxidation and antioxidation in carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats. *Kor. Oil Chemists. Soc.* 21:204-213. 2004
14. Kim, JH and Kim, HK. Effect of dried leaf powders and ethanol extracts of *Perilla frutescens*, *Artemisia princeps* var. *orientalis* and *Aster scaber* on lipid metabolism and antioxidative capacity in rats. *Kor. J. Nutr.* 33:540-551. 1999
15. Hwang, EJ, Lee, SY, Kwon, SJ, Park, MH and Boo, HO. Antioxidative, antimicrobial and cytotoxic activities of *Fagopyrum esculentum* Moench extract in germinated seeds. *Kor. Soc. Medical Crop Sci.* 14:1-7. 2006

16. Park, HA. Enhancing effect of *Ixeris sonchifolia* Hance, *Oenanthe javanica*, and *Fagopyrum esculentum* Moench on mouse immune cell activation. MS. Thesis, Sookmyung Women's Uni., Seoul. Korea. 2003
17. Lee, E. Effects of powdered pine needle (*Pinus densiflora* Seib et Zucc.) on serum and liver lipid composition and antioxidative capacity in rats fed high oxidized fat. *J. Kor. Soc. Food. Sci. Nutr.* 32:926-930. 2003
18. Kim, EJ, Jung, SW, Choi, KP, Ham, SS and Kang, HY. Inhibitory effect of main pine needle extracts on the chemically induced mutagenicity. *Kor. J. Food Sci.* 30:450-455. 1998
19. Choi, SE. Effect of needle extracts on mouse splenocyte proliferation and cytokine production by activated mouse peritoneal macrophage. MS. Thesis, Sookmyung Women's Uni., Seoul. 2000
20. Lee, JH. Effect of pine needle extracts and powder on modulation of immunocompetence in mice and human subjects. PhD. Dissertation, Sookmyung Women's uni., Seoul. 2001
21. Kuby. Immunology 4th edition, Freeman, 1997
22. Owens, T. Immunol. 7th Int. Cong. Immunol. 309. 1989
23. Cunningham, A and Szenberg, A. Ruther improvements in the plaque technique for detecting single antibody-forming cells. *J. Immunol.* 14:599-601. 1968
24. Toshiaki, M, Takahiko, O, Eri, M and Gisho, H. Inhibitory effect of *Perilla frutescens* and its phenolic constituents on cultured murine mesangial cell proliferation. *Planta Medica.* 64:541. 1998
25. Son, EW, Park, JH, Kim, KR, Kim, BO, Lee, DK and Pyo, SH. Effects of the administration of *Bezoar bovis* on immune responses of mice. *Kor. J. Pharmacogn.* 29:48-55. 1998
26. Ishibashi, T, Kitahara, Y, Harada, Y, Harada, S, Takamoto, M and Ishibashi, Y. Immunologic features of mice with streptozotocin-induced diabetes. *Diabetes.* 29:516-523. 1980
27. Ryu, HS and Kim, HS. Enhancing effects of ginger(*Zingiber officinale* Roscoe) extracts on mouse spleen and macrophage cells activation. *Kor. J. Nutr.* 37:780-785. 2004
28. Ryu, HS, Jung, YH and Kim, HS. Effect of *Hizikia fusiforme* water extracts on mouse immune cell activation. *Kor. J. Nutr.* 40:639-649. 2007
29. Cunningham, A and Szenberg, A. Ruther improvements in the plaque technique for detecting single antibody-forming cells. *J. Immunol.* 14:599-601. 1968
30. Roitt, I, Brostoff, J and Male, D. Immunology 4th ed., Mosby. 1996
31. Son, EW, Park, JH, Kim, KR, Kim, BO, Lee, DK and Pyo, SH. Effects of the administration of *Bezoar bovis* on immune responses of mice. *Kor. J. Pharmacogn.* 29:48-55. 1998

---

(2008년 7월 18일 접수; 2008년 9월 22일 채택)