

## 종자 추출물의 RAW 264.7 세포에 대한 면역증강 효과

유아름 · 박호영 · 김윤숙 · 하상근 · 홍희도 · 최희돈<sup>†</sup>

한국식품연구원

### Immuno-enhancing Effect of Seed Extracts on a RAW 264.7 Macrophage Cell Line

A-Reum Yu, Ho-Young Park, Yun-Sook Kim, Sang-Keun Ha,  
Hee-Do Hong, and Hee-Don Choi<sup>†</sup>

Korea Food Research Institute, Gyeonggi 463-746, Korea

#### Abstract

In this study, the immuno-enhancing activity of seed extracts were studied on the macrophage cell lines. We examined the effect of nine seed extracts on nitric oxide (NO) production in RAW 264.7 cells and selected four highly-effective seed candidates (*Fagopyrum esculentum*, *Taraxacum platycarpum*, *Impatiens balsamina*, *Helianthus annuus*) for further immune-related studies. The effects of the four seed extracts on the production of immune-related cytokines in the RAW 264.7 macrophage cell line and proliferation of Molt-4 as a T cell line were investigated. The secretion of NO from the RAW 264.7 cells was increased up to 39  $\mu\text{M}$  by adding the seed extracts (25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) compared to the control. Also, the secretion of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) was also increased up to 32 times by adding the seed extracts (25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). Secretion of cytokines such as interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ), interleukin-6 (IL-6), and interleukin-10 (IL-10) was also increased and induced the proliferation of T cells compared to the control. In conclusion, these results suggest that four seed extracts provide beneficial immuno-enhancing effects for human health.

**Key words:** seed, immune-enhancing, RAW 264.7 cell, nitric oxide, cytokine

#### 서 론

면역은 생체가 자기 성분 이외의 물질이 생체의 항상성을 깨뜨리거나 자기를 위협하는 것을 배제하기 위해 일어나는 일련의 생체방어반응을 의미하며, 대식세포가 관련된 비특이적 면역과 T림프구 및 B림프구가 관련된 특이적 면역으로 분류할 수 있다(1). 비특이적 면역은 자연 면역이라고도 하며, 대식세포 및 백혈구 등으로 구성되어 있다. 대식세포는 체내의 모든 조직에 분포하면서 1차적으로 bacteria, virus 등의 감염성 병원체뿐만 아니라 노화된 정상세포와 암세포 등에 대해 탐식작용(phagocytosis)을 일으켜 제거하는 방어능력을 가지며, 항원제시작용 및 interleukin 계열, TNF- $\alpha$  등의 다양한 cytokine과 생리활성물질을 분비하여 면역반응을 극대화시키는 중요 매개체 역할을 한다. 대식세포가 활성화되면 NO, TNF- $\alpha$  등의 cytokine을 분비하는데 이들은 암세포에 대한 독성을 나타내는 대표적 물질들로 알려져 있다(2,3). 특이적 면역은 적응 면역이라고도 하며, 항원 제시 세포가 포식하여 제시한 항원을 T세포가 인식하면서 이루어지며, T세포가 관여하는 세포성 면역과 B세포가 생산하

는 항체에 의한 체액성 면역반응으로 이루어진다(4). 즉 생체는 외부 항원과 같은 외래 물질의 침입 혹은 감염에 대하여 자연 면역 및 적응 면역계가 적절하게 대항하여 항상성을 유지하게 되어 있다.

최근에는 식물소재의 생리활성 성분에 대한 관심이 높아져 종자, 곡류, 식물의 잎, 뿌리 등의 식물소재로부터 다양한 생리활성 물질들이 보고되고 있다. 일반적으로 유지를 많이 함유한 식물종자에는 항산화 물질이 함유되어 있다고 알려져 있어 항산화 활성과 관련된 연구는 많이 행해지고 있지만 면역증강 및 조절과 관련된 연구는 미흡한 실정이다. 지금까지 국내에서 보고된 종자에 관한 연구로는 비자 추출물의 생리활성(5), 호박 부위별 항산화효과(6), 고추씨의 생리활성(7), 녹차 종자의 생리활성(8), 홍화씨의 생리활성(9), 참외씨의 항산화 활성(10) 등이 있다.

본 연구에서는 9가지 종자 추출물 중 NO 생성능이 높은 4가지 종자를 선별한 후 이들의 면역 관련 활성 능력을 알아 보았다. 종자 추출물을 대식세포주인 RAW 264.7 세포에 처리한 다음 대식세포가 생성하는 NO 및 이와 관련된 cytokine들인 tumor necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ), interleukin-

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: chdon@kfri.re.kr  
Phone: 82-31-780-9068, Fax: 82-31-709-9876

1beta(IL-1 $\beta$ ), interleukin-6(IL-6), interleukin-10(IL-10)의 생성량을 측정하였고, T세포주인 Molt-4 세포에 처리하여 면역세포 증식능을 확인하여 종자 추출물의 면역증진 기능성식품 소재로서 응용 가능성을 검토하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료 및 추출물 제조

고추(*Capsicum annuum*), 달맞이(*Oenothera odorata*), 메밀(*Fagopyrum esculentum*), 민들레(*Taraxacum platycarpum*), 봉선화(*Impatiens balsamina*), 비수리(*Lespedeza cuneata*), 쑥(*Artemisia princeps*), 채송화(*Portulaca grandiflora*), 해바라기(*Helianthus annuus*) 등의 종자는 (주)종꽃씨(Yangpyeong, Korea)에서 구입하여 사용하였다. Bae 등의 방법(11)에 따라 *n*-hexane을 이용하여 탈지한 분말 종자 50 g을 1 L의 20 mM tris-HCl buffer(pH 8.0)에 용해하고, polyvinylpyrrolidone 5 g을 첨가하여 10°C에서 16시간 교반 후 원심분리 하였다. 상등액을 여과하여 불순물을 제거하고, 80% ammonium sulfate로 4시간 동안 처리한 후 원심분리 하여 얻은 pellet은 20 mM tris-HCl buffer(pH 7.4)에 녹여 투석막(spectra/por dialysis membrane MWCO: 6,000~8,000, Spectrum Laboratories, Inc., Rancho Dominguez, CA, USA)을 이용하여 10°C에서 48시간 동안 투석하였다. 투석된 용액은 동결건조 하였고, 얻어진 추출 건조분말은 -20°C 이하에 보관하면서 실험에 사용하였다.

### 세포 배양

실험에 사용한 대식세포주인 RAW 264.7(KTCC No. 40071) 세포와 T세포주인 Molt-4(KTCC No. 21582) 세포는 한국세포주은행(KTCC, Seoul, Korea)에서 분양받아 사용하였다. RAW 264.7 세포는 10% FBS를 함유한 DMEM 배지(Gibco, Grand Island, NY, USA)를 이용하였고, Molt-4 세포는 10% FBS를 함유한 RPMI 1640 배지(Gibco)를 이용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub>로 조절된 incubator에서 배양하였다.

### 세포 독성

종자 추출물의 RAW 264.7 세포에 대한 독성 측정은 생존 세포의 효소작용에 의해 자줏빛 formazan 생성물로 변하는 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, Duchefa Biochemie, Haarlem, Netherland) 환원을 이용하는 방법으로 측정하였다(12).

### NO 생성량

종자의 면역증강 능력을 확인하기 위하여 microplate assay를 이용하여 RAW 264.7 세포의 배양 상등액 중의 NO의 생성 농도를 정량함으로써 측정하였다. 즉 RAW 264.7 세포를 2×10<sup>5</sup> cell/well의 농도로 96 well plate에 분주 24시간 후 또는 종자 추출물을 12, 25  $\mu$ g/mL로 처리하고, 양성대조군으로는 1  $\mu$ g/mL의 lipopolysaccharide(LPS)를 처리하여

24시간 배양하였다. 상등액 100  $\mu$ L와 동량의 Griess reagent(Sigma, St. Louis, MO, USA)를 혼합하여 상온에서 15분 반응시킨 후 ELISA reader(EL800, Biotek, Winooski, VT, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준곡선의 작성은 sodium nitrite를 이용하였다.

### Cytokine 생성량

Cytokine인 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10의 생성량 측정은 RAW 264.7 세포를 96 well plate에 2×10<sup>5</sup> cell/well의 농도로 분주 24시간 후 종자 추출물을 12, 25  $\mu$ g/mL로 처리하고, 24시간 배양 후 세포의 상등액을 모아서 각각의 ELISA kit(Enzo Inc., Ann Arbor, MI, USA)를 이용하여 측정하였다(13). 측정방법은 단일클론항체가 코팅된 microtiter plate에 시료를 넣은 다음 실온에서 반응시킨 후 제공된 washing buffer로 세척하였다. 이어 다중클론성 항체를 넣어 각각의 cytokine을 plate에 부착시킨 후 실온에서 반응시키고 세척 후 측정하고자 하는 cytokine의 conjugate 용액을 넣고 반응시켰다. 반응시킨 plate를 washing buffer로 다시 세척하고 substrate solution으로 실온에서 발색시킨 다음 stop solution을 넣어 발색반응을 정지시키고 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### T세포 증식

종자 추출물의 T세포에 대한 증식능을 확인하기 위하여 Molt-4 세포를 96 well plate에 1×10<sup>5</sup> cell/well 농도로 분주 후 양성대조군으로 concanavalin A(Con A) 5  $\mu$ g/mL와 종자 추출물을 12, 25  $\mu$ g/mL로 각각 처리한 후 96시간 배양하여 MTT assay를 실시하였다(14). 배양 후 0.5 mg/mL 농도의 MTT를 넣고, 빛을 차단한 상태에서 4시간 동안 37°C incubator에서 반응시킨 후 DMSO로 형성된 formazan을 용해하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 증식능은 종자 대신 동량의 배지를 넣은 대조군의 흡광도 대비 상대적인 값으로 나타내었다.

### 통계 분석

본 실험에서 측정한 분석결과는 평균±표준편차로 표기하였으며, 실험군 간의 통계학적 분석은 analysis of variance(ANOVA) 분석을 실시하였고, Duncan's multiple range test로 p<0.05의 수준에서 통계학적 유의성을 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### 대식세포 활성화

인체에 병원체가 침입했을 때 가장 먼저 대응하는 세포들은 호중구(neutrophile), 단핵구(monocyte) 및 대식세포(macrophage)와 같은 탐식세포(phagocytes)들로 이들은 선천 면역반응의 주요 세포군을 형성하고 있다. 이 중 대식세포는 호중구와 함께 생체방어에 있어 최초 대응세포로 항원

Table 1. Effect of nine seed extracts on nitric oxide production by Raw 264.7 cells

Sample	Nitric oxide (µM)
Con	1.9±0.2 <sup>f</sup>
LPS	37.1±0.2 <sup>b</sup>
<i>Capsicum annuum</i>	1.0±0.1 <sup>f</sup>
<i>Oenothera odorata</i>	5.4±1.0 <sup>e</sup>
<i>Fagopyrum esculentum</i>	35.9±0.8 <sup>b</sup>
<i>Taraxacum platycarpum</i>	35.7±2.2 <sup>b</sup>
<i>Impatiens balsamina</i>	36.6±0.6 <sup>g</sup>
<i>Lespedeza cuneata</i>	0.7±0.2 <sup>h</sup>
<i>Artemisia princeps</i>	15.4±1.0 <sup>f</sup>
<i>Portulaca grandiflora</i>	10.5±1.2 <sup>d</sup>
<i>Helianthus annuus</i>	39.6±0.4 <sup>a</sup>

Each value represents mean±SD. Values with the different letters are significantly different by one-way ANOVA test (p<0.05).

제시세포로서의 기능도 수행한다. 대식세포가 활성화되면 NO, TNF-α 등의 cytokine을 분비하는데 이들은 암세포에 대한 독성을 나타내는 대표적 물질들로 알려져 있다(15). 대식세포를 활성화시키는 면역증강 소재를 선정하기 위하여 민들레, 메밀 등 9종의 종자 추출물을 대식세포에 처리한 후 NO 생성량을 측정할 결과, Table 1에서 보는 바와 같이 9종의 종자 추출물 중 메밀, 민들레, 봉선화, 해바라기 종자가 각각 35.93, 35.69, 36.64, 39.59 µM의 NO를 생성하여 다른 종자들과 비교하였을 때 유의적으로 높은 NO를 생성하였고, 이는 대식세포를 활성화시켜 면역증강에 영향을 줄 것으로 사료되어 면역관련 지표를 분석하였다.

세포독성

종자 추출물의 세포독성 여부를 확인하기 위하여 미토콘드리아의 활성을 이용한 MTT assay를 이용하여 세포독성능을 측정하였고, 그 결과는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 4종의 종자 추출물은 12, 25 µg/mL의 농도에서 모두 90% 이상의 세포 생존율을 나타내어 세포독성에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

NO 생성능

NO는 면역계에서 외부물질에 대한 방어 작용을 하는 중

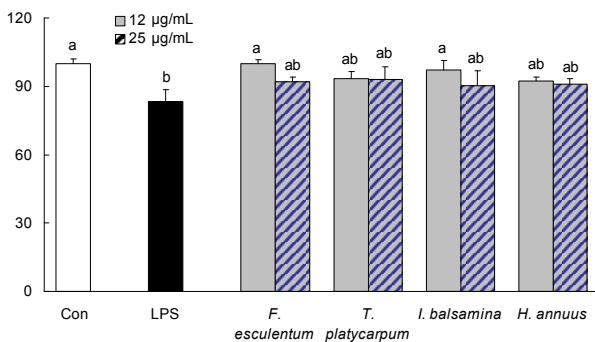


Fig. 1. Effect of seed extracts on the cell viability of RAW 264.7 macrophage. Values with the different letters above bar-graphs are significantly different by one-way ANOVA test (p<0.05).

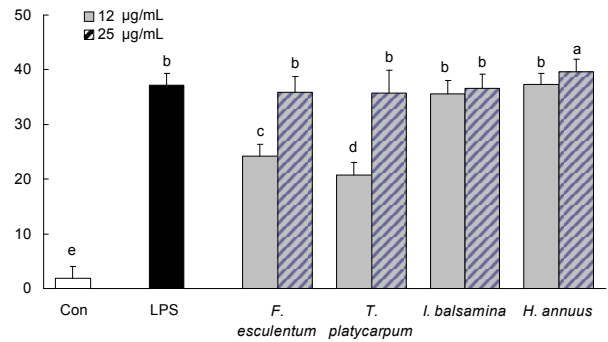


Fig. 2. Effect of seed extracts on the nitric oxide production by RAW 264.7 macrophage. Values with the different letters above bar-graphs are significantly different by one-way ANOVA test (p<0.05).

요한 신호 전달 물질로 nitric oxide synthase(NOS)의 작용에 의해 L-arginine이 L-citruline으로 변화되는 과정에서 생성되며 대부분의 조직세포에 영향을 미쳐 순환기계에서는 혈관 이완 물질로, 중추신경계에서는 신경 전달 물질로, 면역계에서는 방어 물질로 알려져 있다(16). 본 연구에서는 4종의 종자 추출물이 대식세포를 활성화시켜 NO 생성에 어떠한 영향을 끼치는지 알아보기 위하여 RAW 264.7 세포에 종자 추출물을 12, 25 µg/mL의 농도로 처리한 결과, 대조군에 비하여 최대 19.9배 많은 NO를 생성하였고 25 µg/mL의 농도에서는 양성 대조군인 LPS를 처리한 것과 비슷한 수준으로 NO를 생성하였다(Fig. 2). Lee 등(17)의 연구에서 미나리과에 속하는 식물의 종자 추출물을 RAW 264.7 세포에 농도별로 처리 시 NO가 대조군보다 최대 4배 이상 생성되었고 농도 의존적으로 증가하였다고 보고하였으며, Yang 등(8)의 연구에서는 메탄올에서 추출한 녹차 종자를 RAW 264.7 세포에 처리 시 100 µg/mL의 높은 농도에서 대조군에 비하여 NO 생성이 높았다고 보고하여 본 연구결과와 유사한 결과를 나타내었다. 생체는 외부로부터 이물질이 침입하게 되면 자기방어를 위해 대식세포가 활성화되어 탐식작용 및 다양한 면역조절물질을 생성한다(1). 따라서 본 연구결과 대식세포에 종자 추출물만을 처리하였을 때 25 µg/mL의 농도에서 LPS를 처리한 것과 비슷한 수준으로 NO를 생성한 것으로 볼 때 외부로부터의 자극이 있기 전에 4종의 종자 추출물이 면역세포를 스스로 자극시켜 외부 물질 침입 등의 감염에 대한 1차 방어를 하여 면역반응이 일어나는 초기에 생체 방어에 유리한 작용을 할 수 있을 것으로 보인다.

TNF-α 생성능

활성화된 대식세포는 스스로 IL-1β, TNF-α, IL-6 등의 여러 가지 cytokine을 생산함으로써 이후의 면역반응을 유도한다고 알려져 있다. 그중 TNF-α는 미성숙 수지상세포의 표면에 단백질 혹은 보조자극인자의 발현을 촉진하여 성숙된 형태의 수지상세포로 전환시켜 T림프구와 상호 작용하여 T림프구의 활성화 성장 등을 조절하며 암세포의 세포 용해를 유도함으로써 직접적으로 항암 작용을 나타내기도

한다(4). 본 연구 결과 LPS를 처리한 경우 대조군에 비하여 유의적으로 높은 TNF- $\alpha$ 를 생성하였고, 4종의 종자 추출물을 처리한 경우 TNF- $\alpha$ 의 생성이 대조군보다 유의적으로 높았으며, 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서는 양성대조군인 LPS를 처리한 것과 비슷한 수준으로 TNF- $\alpha$ 가 생성되어 종자 추출물이 LPS 수준으로 대식세포를 활성화시키는 것으로 나타났다(Fig. 3A). 이와 같은 결과는 Tong 등(18)의 연구에서 포도씨를 대식세포에 농도별로 처리 시 대조군보다 높은 TNF- $\alpha$ 를 생성하였고 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서는 LPS 수준으로 증가하였다고 보고하였으며, Kang과 Sohn(19)의 연구에서도 해당화 종자 추출물을 대식세포에 처리 시 농도별로 대조군보다 TNF- $\alpha$ 의 생성을 유의적으로 증가시켰다고 보고하여 본 연구와 비슷한 결과를 나타냈다. 또한 Bahaa와 Abel(20)은 당뇨병을 유발시킨 쥐에게 black seed를 먹인 결과, 당뇨병 그룹에 비해 TNF- $\alpha$ 가 증가되어 black seed 섭취가 잠재적으로 세포내 면역적으로 유익한 효과를 가져다 줄 것으로 보고하였다. TNF- $\alpha$ 는 IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-12와 같이 Th-1 세포 반응을 유도하는 cytokine으로 뇌경색이나 암 같은 질병에 있어 면역을 증강시키고, 암세포 성장을 억제한다고 보고한 것과 같이 본 실험에 사용한 4종의 종자 추출물이 TNF- $\alpha$  생성을 증가시키고 이는 Th-1 세포의 활성화 향상에 기여하여 면역증강에 도움을 줄 수 있을 것으로 판단된다(21).

Interleukine 생성능

IL-1 $\beta$ 는 단핵 백혈구와 대식세포계 세포에 의해 생산되는 cytokine으로 T세포를 활성화시키고, T세포에서 분비되는 IL-2와 같은 cytokine의 활성을 증진시키는 등 cytokine

network에 중요한 역할을 한다(22). 본 연구 결과 4종의 종자를 대식세포에 처리 시 대조군에 비해 유의적으로 높은 IL-1 $\beta$ 를 생성하였으며, 특히 민들레 씨의 경우 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도 처리시 대조군에 비해 18배 높은 IL-1 $\beta$ 가 생성되었다(Fig. 3B). IL-1 $\beta$ 는 T세포의 활성화, B세포의 성숙 및 NK세포의 활성을 증가시키는 것에 관여하는 것으로 볼 때(23) 본 실험의 종자 추출물이 1차적으로 대식세포를 활성화시켜 IL-1 $\beta$ 의 생성을 증가시키고 증가된 IL-1 $\beta$ 가 2차적으로 T세포와 B세포를 자극하여 면역 체계를 활성화시켜 체내 면역증강에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다.

IL-6는 조혈작용과 면역반응을 조절하는데 관여하는 다양한 기능을 가진 cytokine으로서 B세포의 항체생성 세포인 plasma cell의 최종 분화를 유도하는 활성을 가진 B세포 자극 인자로 면역글로불린의 합성을 증진하고, 다른 cytokine과 협동하여 상승작용을 나타내는 등 다양한 작용을 한다(22). 본 실험 결과 4종의 종자 추출물을 농도별로 처리 시 양성 대조군인 LPS를 단독으로 처리한 것보다는 낮았지만, 대조군보다는 유의적으로 높은 IL-6를 생성하였다(Fig. 3C). Majdalawieh와 Carr(24)는 후추 종자 추출물을 대식세포에 농도별로 처리 시 대조군에 비해 유의적으로 높은 IL-6를 생성하였다고 보고한 바 있다. 따라서 본 연구 실험 결과 4종의 종자 추출물에 의해 활성화된 대식세포에서 면역매개인자 IL-6의 생성을 촉진함으로써 면역 활성을 증진시키는 효능이 있는 것으로 보이며, 생성이 증가된 IL-6는 단일클론 항체의 생성에 관여하는 cytokine으로(23) 특정한 외부 물질 침입 시에 항체를 생성하는 B세포를 자극함으로써 체내 면

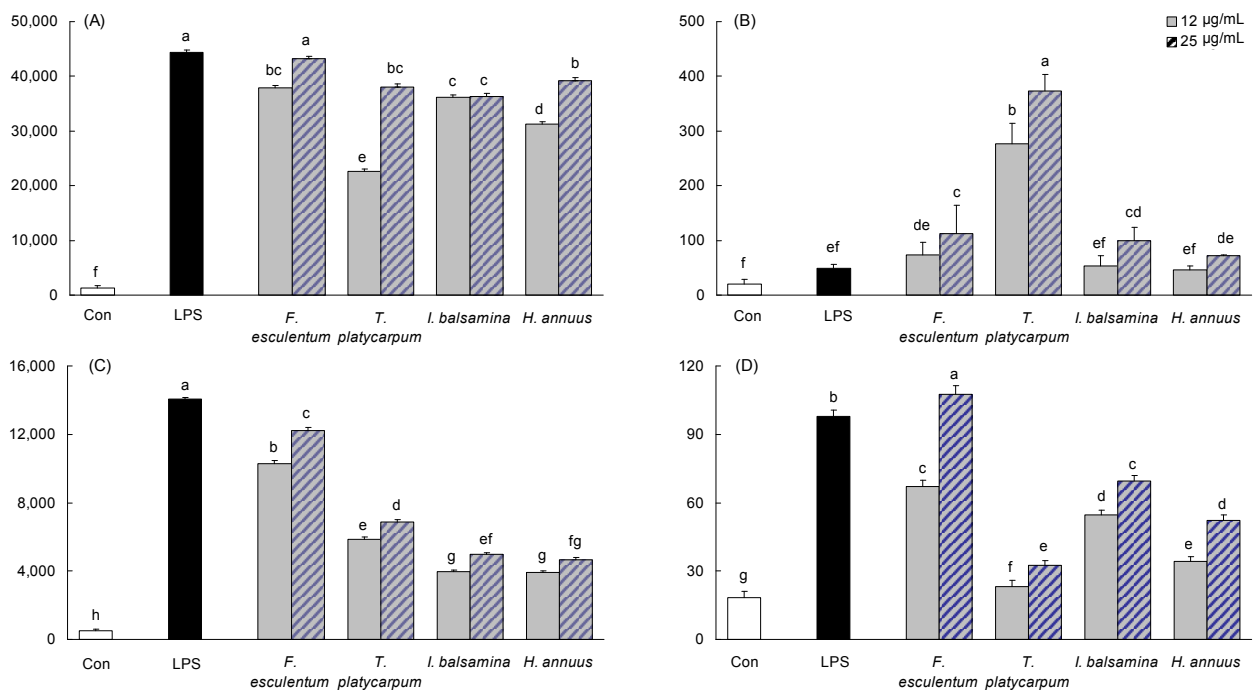


Fig. 3. Effect of seed extracts on the cytokines production by RAW 264.7 macrophage. Values with the different letters above bargraphs are significantly different by one-way ANOVA test ( $p < 0.05$ ).

역을 증가시킬 수 있을 것으로 사료된다.

IL-10의 경우 본 연구에서 4종의 종자 추출물을 12, 25 µg/mL의 농도별로 대식세포에 처리 시 IL-10의 생성이 대조군에 비해 유의적으로 증가하였으며, 특히 메밀 종자의 경우 25 µg/mL의 농도에서 양성대조군인 LPS를 처리한 것과 유사하게 IL-10이 생성되었음을 확인하였다(Fig. 3D). Majdalawieh와 Carr(24)는 cardamon 종자 추출물을 비장 세포에 처리 시 IL-10의 생성이 1, 10 µg/mL의 농도에서는 대조군과 유의적인 차이가 없었으나 50, 100 µg/mL의 농도로 처리 시 대조군에 비해 유의적으로 IL-10의 생성이 증가하였다고 보고하였고, Wang 등(25)은 파파야 종자에서 추출한 lectin을 monocyte에 농도별로 처리 시 농도별로 IL-10의 생성이 증가하였으나 대조군과 유의적인 차이가 없다고 보고하였다. 본 연구 결과 종자 추출물은 대식세포를 자극하여 활성화시켜 IL-10의 생성을 증가시킴으로써 B세포를 조절하여 항체 생성에 영향을 주어 체액성 면역증강 효과에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다.

T세포 증식능

비장은 혈액으로부터 항원을 수집하며, 항원에 의해 자극을 받은 후에 림프구의 분화가 이루어지는 주요 림프기관으로 비장 내 림프구의 증식은 면역 시스템에서 매우 중요한 의미를 갖는다(26). 우리몸의 전체 림프구중 비장에 분포되어 있는 림프구는 T세포가 60%, B세포가 30% 정도로 T세포의 비율이 높다. T세포는 외부 이물질이 체내로 유입되면 항원에 특이적 반응성을 보여 직접 면역반응에 관여하는 세포성 면역반응을 일으킨다(27). 본 연구에서는 T세포주인 Molt-4 세포에 4종의 종자 추출물을 12, 25 µg/mL의 농도로 처리하여 증식능을 측정한 결과(Fig. 4), 25 µg/mL의 농도 처리 시 대조군에 비해 최대 1.4배 증가하였고, 특히 메밀, 봉선화, 해바라기 종자의 경우 25 µg/mL의 농도에서는 양성대조군인 Con A를 처리한 것보다 유의적으로 높은 세포 증식이 일어났다. Majdalawieh와 Carr(24)는 black pepper 추출물을 비장세포에 처리 시 대조군에 비해 유의적으로 세포가 증식되었다고 보고하였고, Tong 등(18)도 포도씨 proanthocyanidin을 비장 세포에 Con A와 함께 처리 시 농도별로

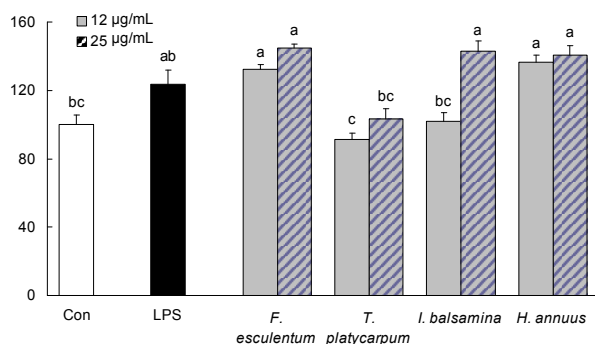


Fig. 4. Effect of seed extracts on proliferation rate of T cells. Values with the different letters above bargraphs are significantly different by one-way ANOVA test (p<0.05).

세포가 증식되었다고 보고한 것으로 볼 때 민들레, 메밀, 봉선화, 해바라기 종자 또한 T세포를 자극하여 면역증강에 효과가 있는 것으로 보고하였다.

본 연구 결과 메밀 등의 종자 추출물은 대식세포를 자극하여 활성화시키는 면역 활성인자로 작용하는 것으로 판단된다. 특히 메밀과 해바라기 종자는 식용가능한 원료이기 때문에 면역증진 소재 개발에 유용한 자원으로 활용될 수 있으며, 향후 정제과정을 통하여 활성성분을 분리하고 구조 특성 및 기타 생리활성을 규명함으로써 고부가가치 식품 소재로서의 이용가능성을 검토할 필요가 있을 것으로 사료된다.

요 약

9 종류의 종자 중 대식세포를 자극하여 NO 생성능이 높은 메밀, 민들레, 봉선화, 해바라기 4종의 종자를 선별하였다. 선별된 4종의 종자 추출물이 RAW 264.7 세포를 활성화시켜 면역을 증진시키는 효과를 알아보기 위해 RAW 264.7 세포와 T세포를 이용하여 면역 활성능 관련 지표를 조사하였다. 4종의 종자를 대식세포에 처리하였을 때 면역 활성의 지표가 되는 NO, cytokine(TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-10)의 생성이 추출물을 처리하지 않은 대조군에 비해 증가되었고, Molt-4 세포에 처리하였을 때 대조군에 비해 세포가 증식되었다. 이와 같은 결과는 종자 추출물을 섭취하였을 때 외부로부터의 어떠한 자극이 있기 이전에 체내의 모든 조직에 분포하면서 1차적으로 이물질을 제거하는 대식세포를 자극하여 cytokine 등의 면역매개물질을 생성하여 인체의 비특이적 면역반응을 증가시킴으로써 항원을 공격, 제거하는 등의 작용을 통해 자연 면역반응에 있어 중요한 역할을 할 수 있을 것으로 판단된다.

문 헌

1. Seo SY, Pang JY, Li RH, Kwon J, Ahn MS, Eun JS. 2009. Effects of the combined extracts of *Glycine max* Merr. and *Glycyrrhiza uralensis* on the activity of murine splenocytes and macrophages. *Korean J Oriental Physiol Pathol* 23: 1385-1391.
2. Hibbs JB Jr, Taintor RR, Vavrin I, Rachlin EM. 1998. Nitric oxide: a cytotoxic activated macrophage effector molecule. *Biochem Biophys Res Commun* 157: 87-94.
3. Nathan CF. 1987. Secretory products of macrophages. *J Clin Invest* 79: 319-326.
4. Yoon TJ. 2008. Effect of water extracts from root of *Taraxacum officinale* on innate and adaptive immune responses in mice. *Korean J Food Nutr* 21: 275-282.
5. Jeon HS, Lee YS, Kim NW. 2009. The antioxidative activities of *Torreya nucifera* seed extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1-8.
6. Kim MJ, Hong CO, Nam MH, Lee KW. 2011. Antioxidant effects and physiological activities of pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) extract from different aerial parts. *Korean J Food Sci Technol* 43: 195-199.
7. Ku KH, Choi EJ, Park WS. 2008. Functional activity of wa-

- ter and ethanol extracts from red pepper (*Capsicum annuum* L.) seeds. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 1357-1362.
8. Yang HS, Kim JY, Kim HC, Nou IS, Seo KL. 2006. Biological activities of methanol extracts from green tea seed. *Korean J Food Preserv* 13: 769-773.
  9. Kim HJ, Jun BS, Kim SK, Cha JY, Cho YS. 2000. Polyphenolic compound content and antioxidative activities by extracts from seed, sprout and flower of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *J Korea Soc Food Sci Nutr* 29: 1127-1132.
  10. Kim HS, Kang YH. 2010. Antioxidant activity of ethanol extracts of non-edible parts (stalk, stem · leaf, seed) from oriental melon. *Korean J Plant Res* 23: 451-457.
  11. Bae CH, Kim JC, Kim YJ, Kim SG, Na KH, Park BT, Kim HH. 2007. Purification efficiency of a lectin from *Maackia fauriei*. *Yakhak Hoeji* 51: 259-263.
  12. Bae IK, Min HY, Han AR, Seo EK, Lee SK. 2005. Suppression of lipopolysaccharide-induced expression of inducible nitric oxide synthase by brazilin in RAW 264.7 macrophage cells. *Eur J Pharmacol* 513: 237-242.
  13. Kim YH, Yoon HJ, Moon ME, Lee JH, Park HS, Kim JS. 2005. Production of NO, TNF- $\alpha$  and IL-6 by squalene, alkoxy glycerol, batyl and chimyl solutions in Raw 264.7 macrophage cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 1503-1508.
  14. Ryu HS, Kim JH, Kim HS. 2008. Effects of plant water extract mixture *Ixeris sonchifolia* Hance, *Oenanthe javanica*, *Fagopyrum esculentum* Moench, *Hizikia fusiforme*, *Zingiber officinale* Roscoe on mouse immune cell activation *ex vivo*. *Korean J Nutr* 41: 141-146.
  15. Shin KS. 2012. Immunostimulating plant polysaccharides: macrophage immunomodulation and its possible mechanism. *Food Sci Ind* 45: 12-22.
  16. Ryu HS, Kim HS. 2006. Effect of *Zingiber officinale* and *Hizikia fusiforme* water extracts on NO production in macrophage of mice. *Korean J Food & Nutr* 19: 327-331.
  17. Lee JB, Yamagishi C, Hayashi K, Hayashi T. 2011. Antiviral and immunostimulating effects of lignin-carbohydrate-protein complexes from *Pimpinella anisum*. *Biosci Biotechnol Biochem* 75: 459-465.
  18. Tong H, Song X, Sun X, Sun G, Du F. 2011. Immunomodulatory and antitumor activities of grape seed proanthocyanidins. *J Agric Food Chem* 59: 11543-11547.
  19. Kang NS, Sohn EH. 2010. Immunomodulatory effects of fructus and semen from *Rosa rugosa* on macrophages. *Korean J Plant Res* 23: 399-405.
  20. Bahaa KA, Abel S. 2011. Immunomodulatory effects of black seeds and garlic on alloxan-induced diabetes in albino rat. *Allergol Immunopathol* 324: 1-5.
  21. Jeong HJ, Chung HS, An HJ, Kim JB, Lee EM, Park EJ, Jang CH, Hong SH, Kim HM. 2003. Immune-enhancement effect of the herbal combination Allergina. *Clin Chim Acta* 337: 77-84.
  22. Cha JH, Kim YS, Lee EM. 2010. Effects of *Prunellae spica* water extract on immune response in macrophage cells. *J Orien Obstet Gynecol* 23: 91-100.
  23. Kim JH, Kim YS, Lim EM. 2012. Immune enhancing effect of *Houttuyniae herba* on mouse macrophage. *J Orien Obstet Gynecol* 25: 12-22.
  24. Majdalawieh AF, Carr RI. 2010. In vitro investigation of the potential immunomodulatory and anti-cancer activities of black pepper (*Piper nigrum*) and cardamom (*Elettaria cardamomum*). *J Med Food* 13: 371-381.
  25. Wang TH, Kung YL, Lee MH, Su NW. 2011. N-Acetyl-D-galactosamine-specific lectin isolated from the seeds of *Carica papaya*. *J Agric Food Chem* 59: 4217-4224.
  26. Seo YS, Shin KS. 2012. Immune system-stimulating activities of mucilage polysaccharides isolated from *Opuntia humifusa*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 95-102.
  27. Park SH, Choung SY, Choi YJ. 2011. Immune regulating effect of polysaccharide fraction from sea hare (*Aplysia kuroda*). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 372-378.

(2012년 10월 24일 접수; 2012년 11월 21일 채택)