

식물 기원의 면역활성 다당: 대식세포 기능 조절 및 작용기작

Immunostimulating Plant Polysaccharides: Macrophage Immunomodulation and Its Possible Mechanism

신 광 순

Kwang-Soon Shin

경기대학교 식품생물공학과

Department of Food Science and Biotechnology, Kyonggi University

I. 서론

20세기 들어 항생물질과 같은 현대의약의 개발로 많은 감염성질환이 급격히 감소되어 인류 건강에 큰 공헌을 한 것이 사실이나 20세기 후반에 이르러 현대의 약으로 그 치료가 어려운 만성 대사성 질환이 급증하고 있으며, 특히 체질성(constitutional) 질환이나 심인성(psychosomatic) 질환의 급증 및 합성의약품의 심각한 부작용이 알려지면서 기존의 의약품을 대체할 새로운 수단이 강력히 요구되고 있다(1). 전통적인 항생물질에 의한 치료의 가장 유망한 대체 수단으로 인체가 갖는 고유의 방어기구인 면역계의 활성화를 유도하는 면역조절제(immuno-modulator)의 이용이 제안되고 있다. 특히 과거 민간이나 한방에서 사용되어 왔던 다양한 식물류에 이러한 인체고유의 방어기구를 활성화하는 물질이 존재할 것으로 기대되어 많은 연구자의 관심과 연구가 집중되고 있다(1). 전통적으로 식물재료를 이용한 약물은 주로 열수로 추출하여 이용되어 왔는데 이러한 추출물 중에는 alkaloid, flavonoid, ter-

penoid 및 saponin과 같은 저분자 물질과 다당류, 단백질, tannin 등과 같은 고분자 물질이 다양하게 혼재되어 있게 된다. 저분자 물질이 갖는 생물활성과 이에 대한 연구는 비교적 상세히 과학적인 해명이 이루어져 왔지만, 이들 중 많은 물질은 대부분 물에 난용성으로 식물 추출물이 가지는 모든 약리활성을 책임진다고는 할 수 없다. 최근 식품재료 및 생약의 열수추출물 중 고분자획분에서 다양한 약리활성이 관찰되고 있고(2-5), 특히 식물유래 다당에서 높은 면역증진 활성이 보고되고 있는데, 이들은 비교적 낮은 독성과 넓은 spectrum의 치료 특성(6-8)을 갖고 있어 의약품 내지 건강유지 목적의 기능성식품의 소재로 응용이 가능할 것으로 생각되고 있다. 식물 기원의 다당이 갖는 약리활성의 작용기구에 대해서는 여전히 연구가 진행되고 있는 분야이지만, 주요 작용 mechanism의 하나로 면역계의 비특이적 활성화가 제안되고 있다(6). 식물 다당의 면역증진활성, 항암활성, 항균활성 및 기타 약리활성은 면역계 중 대식세포(macrophage)와 보체계(complement system)의 활성화(9,10)를 경유하여 일어나

Corresponding author: Kwang-Soon Shin

Department of Food Science and Biotechnology, Kyonggi University, San 94-6, Ieui-dong, Youngtong-ku,

Gyeonggi-do 443-760, Korea

Tel: 82-31-249-9655

Fax: 82-31-249-9650

e-mail: ksshin@kyonggi.ac.kr

는 것으로 생각되고 있으며 결과적으로 선천면역계의 활성화가 다양한 병원체에 대하여 신속하고 강력하게 대응하는 인체의 능력과 밀접한 관련이 있다고 보고되고 있다(11). 따라서 본 논문에서는 식물 유래의 면역 활성 다당과 이들이 선천 면역기구 중 대식세포의 기능에 어떻게 작용하는 지 개관함으로써, 식물 다당이 소유한 의약품 또는 건강기능소재로서의 잠재적 유용성을 제시하고자 한다.

II. 식물기원의 다당류 (Plant polysaccharides)

식물에 존재하는 다당류는 저장성 다당류(starch, inulin 등)를 제외하고 고등식물의 1차 및 2차 세포벽(primary and secondary cell wall)과 중엽층(middle lamella)에 주로 존재하고 있으며 크게 cellulose, hemicellulose 및 펙틴(pectin)을 포함한 펙틴물질(pectic substances)로 구성되어 있다(12,13). Cellulose는 그림 1에 나타난 바와 같이 수천, 수만의 cellulose 분자가 많은 수소결합에 의해 강력히 다발을 형성하고 있어 열수추출에 의해 수용화되지 않으며, 구조적 단순성으로 인해 식이섬유로서의 기능외에 어떠한 약리활성도 나타나지 않는 것으로 알려져 있다. 한편 hemicellulose는 과거 알카리 용해성 식물 다당류로 알려진 다당으로, 주로 cellulose 다발과 교차 결합하여 network을 형성함으로써 식물 세포벽의 물리적

강도를 증가시키는 기능을 갖는 것으로 보고되어 있다. 최근 다당의 구조분석 기술이 발달되면서 hemicellulose는 xyloglucan 또는 arabinoxylan, galactomannan 등의 다당임이 밝혀지고 있으며 이들 역시 구조적 강건성에 기인, 단순 물 추출로는 분리 어려운 것으로 알려져 있다. 펙틴물질은 식물 세포벽의 구성 다당류 중 가장 복잡한 형태로 존재하고 있는 다당으로 주구성당으로 galacturonic acid외에 다양한 종류의 중성당으로 이루어진 이질 다당류(heteropolysaccharide)이다(14). 펙틴은 적당한 산과 당의 존재 하에서 gel과 film을 형성할 수 있다는 점 때문에 식품가공 분야에 있어 중요한 역할을 담당해 왔으며 식이섬유로서의 생리효과가 기대되어 식품공업에 있어 수요가 높은 재료이기도 하다. 펙틴은 과거 D-galacturonic acid(GalA)가 α -1,4 결합으로 연결된 고분자 물질(α -D-1,4-polygalacturonan)로, 구성 GalA의 carboxyl기가 methylester화 되어 있거나 염형태, 혹은 free acid 형태를 가지고 있다고 알려져 왔다. 그러나 실제로 자연계에 존재하는 펙틴은 이보다 훨씬 복잡한 구조를 가지고 있다고 보고되고 있는데 전체분자의 많은 부분은 직쇄상의 homogalacturonan(HG)으로 구성(펙틴의 smooth region)되어 있지만 여기에 다양한 oligo- 및 polysaccharide가 고도로 분지(branch)된 rhamnogalacturonan류(rhamnogalacturonan I 및 II)가 공유적으로 결합(펙틴의 hairy

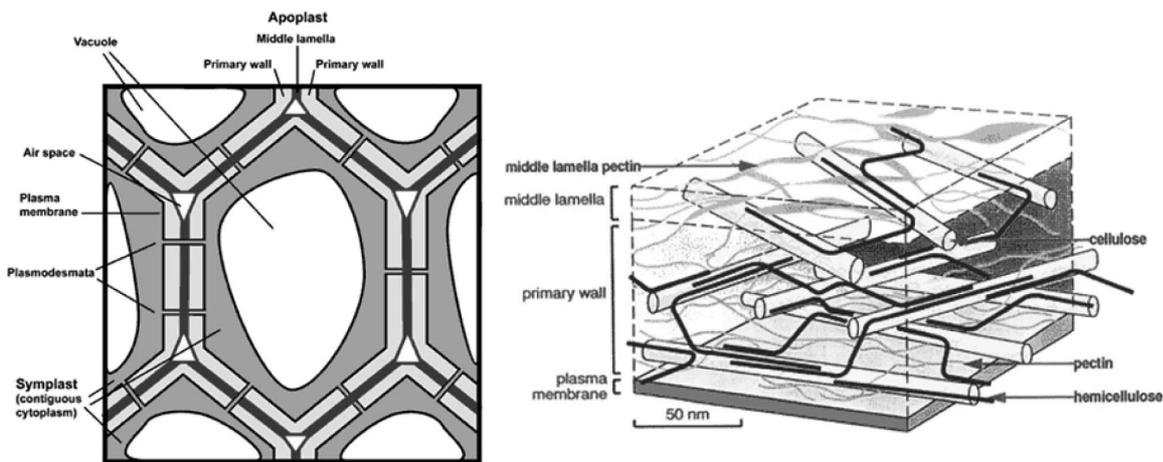


그림 1. 식물의 세포벽과 이를 구성하는 다당류

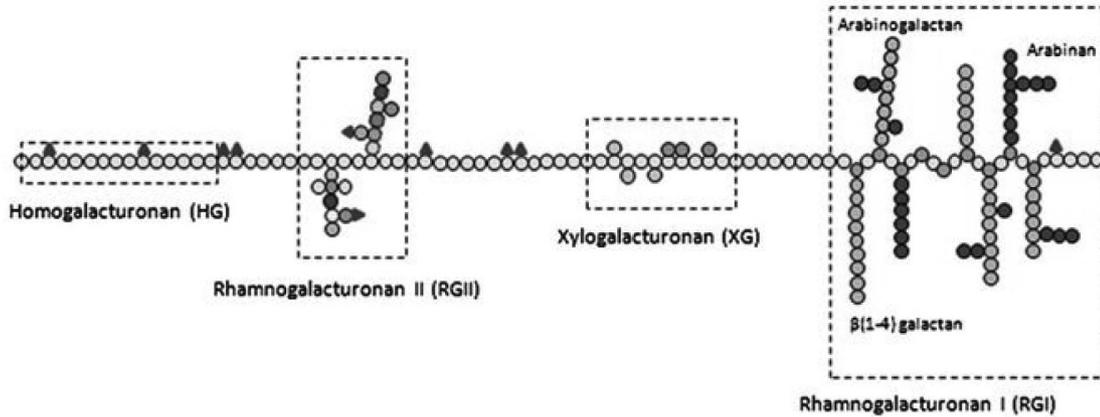


그림 2. 식물기원 복합 다당체인 펙틴의 영역별 구조의 모식도.

region을 구성되어 있는 것으로 보고되고 있다(15). (그림 2 참조) 펙틴류는 식물세포벽에서 cellulose/hemicellulose network의 사이를 충전시키는 비교적 자유로운 다당 분자로서 열수에 의해 쉽게 추출이 가능한데 이를 pectinase[endo- α -(1-4)-polygalacturonase, endo-PGase]로 가수분해하면 rhamnogalacturonan I(RG-I) 및 rhamnogalacturonan II(RG-II)를 얻을 수 있게 된다(16). 이들의 구조는 Albersheim 등에 의해 비교적 상세히 밝혀져 보고되고 있는데 RG-I의 경우, GalA와 rhamnose(Rha)로 구성된 [-4)- α -D-GalA-(1,2)- α -L-Rha-(1)n의 이당류가 반복되어 연결된 backbone(rhamnogalacturonan core)에 arabinan, galactan, arabinogalactan 및 oligosaccharide류가 Rha를 경유하여 고도로 분지된 구조를 가지고 있다(17). 또한 RG-II(18,19)는 α -1,4 결합으로 연결된 homogalacturonan을 주쇄로 하고, 여기에 일반 다당류에서는 거의 관찰되지 않는 2-methylfucose(2-Me-Fuc), 2-methylxylose(2-Me-Xyl), apiose(Api), aceric acid(AceA), KDO(2-keto-3-deoxyoctulosonic acid) 및 DHA (3-deoxy-D-lyxo-2-heptulosaric acid)와 galacturonic acid(GalA), glucuronic acid(GlcA), rhamnose(Rha), arabinose(Ara) 등을 구성당으로 하는 oligosaccharide가 아주 복잡한 형태로 분지되어 존재하고 있으며 RG-I에 비해 크기가 작은 다당으로 알려져 있다(그림 2 참조). 이외에 HG 주쇄에 단당류 형태의 Api 또는 Xyl가 결합된 xylogalacturonan(XG)

이 결합되어 있는 것으로 알려져 있지만 존재 및 발견 빈도는 RG-I 및 RG-II에 비해 낮은 것으로 알려져 있다. 펙틴류에서 관찰되는 면역증진 활성을 포함한 대부분의 약리활성(20)은 HG main chain에서는 거의 보고된 바 없으며, 주로 복잡한 구조의 RG-I과 RG-II의 미세구조의 차이에 기인한 것으로 알려지고 있다(3). 펙틴물질이 갖는 구조적 공통성에도 불구하고 RG-I과 RG-II의 구조는 식물체 마다 상이하여 약리활성에 차이가 있으며, 때로는 재배 장소, 추출방법에 의해서도 구조적 차이를 보이는 것으로 알려져 있다. 한편 citrus pectin과 apple pectin처럼 일반식품 공업에서 많이 사용되는 상업용 펙틴의 경우에도 다양한 분자분포, acyl화 형태, ester화도(degree of esterification, DE)가 상이한 다양한 제품이 생산되고 있다. 이들의 경우 원재료로부터 추출 시, 펙틴의 gel화 능력을 높이기 위해 HG 영역의 함량이 최대가 되도록 가공되고 있어 대부분의 경우 어떠한 약리 활성도 보고되어 있지 않다. 따라서 펙틴의 약리활성이 배가된 상업용 펙틴을 생산하기 위해선 HG영역이 아닌 RG-I 및 RG-II의 중요성이 강조된 새로운 추출방법에 의한 생산이 요청된다 하겠다.

III. 대식세포와 생체 방어

인체의 생체방어 기능은 매우 복잡하고, 역할이 다른 다양한 세포들이 관여된 복합반응이다(21). 인체에



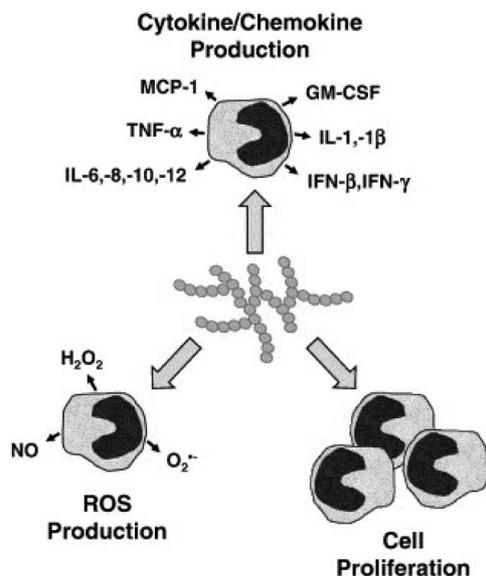
병원체가 침입했을 때 가장 먼저 대응하는 세포들은 neutrophil(호중구), monocyte(단핵구) 및 macrophage(대식세포)와 같은 탐식세포(phagocytes)들로, 이들은 선천 면역반응의 주요 세포군을 형성하고 있다(22). 이 중에서 대식세포는 호중구와 함께 상피세포 장벽 이후의 생체방어에 있어 최초 대응세포로 계통 발생학적으로 모든 동물류에서 관찰된다. 또한 대식세포는 항원제시세포(antigen presenting cell)로서의 기능도 수행하는데 후천적 면역반응을 조절하는 T-lymphocyte와 반응하여(23) 이후의 면역반응에도 영향을 주게 된다. 더구나 대식세포는 배아발생(embryogenesis), 상처 치유, apoptic cell의 제거, 혈세포 증식(hematopoiesis)과정 동안 조직의 재형성에도 관여하는 것으로 알려져 있다(24,25).

대식세포는 항원의 감시, 화학주성에 의한 이동, 탐식 및 표적항원의 제거에 이르는 일련의 복잡한 항원 제거 기능을 수행하게 되는데(11), 탐식작용에 의해 관리되는 표적 항원들은 곰팡이, 세균, virus 감염세포

등 다양한 세포를 포함하지만 새로운 병원체가 출현했을 때에는 심각한 문제를 야기할 수 있으므로 의사들은 이를 정확히 진단하고 빠르게 치료할 수 있도록 준비해야 한다(26). 한편 최근 많은 연구들은 질병이 발생한 이후가 아니라 이에 대처한 예방 전략의 개발이 장기적으로 건강유지라는 측면에서 보다 효과적이며 유익하다고 제안하고 있다(27,28). 따라서 비특이적으로 작동하는 선천 면역계를 활성화시킬 수 있는 새로운 치료법의 개발은 기존의 병원체(항생물질 내성균)와 새롭게 출현하는 병원균 및 virus의 공격(AI 등)에 효과적으로 대처하고자 하는 세계적 관심사의 해답을 줄 수 있는 이상적 전략이라 할 수 있다. 이러한 관점에서 대식세포의 활성인자 (macrophage immunomodulator)가 그 대안이 될 수 있다는 점이 많은 보고를 통해 제안되고 있다(29-31). 그러나 식물 기원의 면역활성 물질들은 여러 의학적 문제에 기인하여 전통 한방 및 민간요법의 방법으로만 사용되어 왔는데, 최근 이들에 대한 과학적 연구가 광범위하게 진행되면서 새로운 의학적 응용이 가능한 면역활성 다당들이 다수 보고되고 있다. 그림 3에 나타난 바와 같이, 다양한 식물기원의 다당들은 대식세포 면역기능을 조절하여 여러 유용한 약리활성을 나타낸다.

IV. 식물 기원의 면역활성 다당

고등식물 기원의 대부분의 다당류는 독성이 거의 없고, 다른 미생물 유래의 면역조절물질(예, LPS)이나 합성의약품에서 문제가 되는 심각한 부작용을 야기시키지 않으므로 면역활성, 항암 및 상처치유 작용의 치료제 개발에 있어 가장 이상적인 후보군이라 할 수 있다(32-34). 표 1에 요약한 바와 같이, 이제까지 진행된 많은 연구에서 다양한 종류의 식물에서 분리한 다당들은 대식세포를 공통적으로 활성화시키는 것으로 보고되고 있다. 특히 이들 다당은 종양세포 및 미생물 세포에 대한 대식세포의 세포독성, 탐식작용, 활성산소종(reactive oxygen species, ROS) 및 nitric oxide(NO)의 생산 등을 증가시켰으며 tumor necrosis factor(TNF- α), interleukin (IL)-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, IFN- γ 및 IFN- β 와 같은 cytokine 및 chemokine의



Abbreviations: IL, interleukin; IFN, interferon; TNF- α , tumor necrosis factor α ; GM-CSF, granulocyte/macrophage colony-stimulating factor; MCP-1, monocyte chemoattractant protein-1; NO, nitric oxide.

그림 3. 식물기원의 다당의 다양한 대식세포 활성화

표 1. 다양한 식물기원의 대식세포 면역활성 다당

Scientific name (Common name)	PS features (name, source, structure)	Cell type	Effects on macrophages ^a	LPS contamination
<i>Acanthopanax senticosus</i> (가시오기과)	PS derived from seeds	Murine peritoneal M ϕ	NO, IL-1 β , IL-6 and TNF- α	Negative
<i>Aloe barbadensis</i> (알로에)	Acemannan	Murine RAW 264.7 M ϕ	NO, IL-6 and TNF- α	Negative
	Aloeride (Mr 4-7000 kDa)	Human THP-1 M ϕ	IL-1 β and TNF- α message	Negative
<i>Anadenanthera colubrina</i> (Fabaceae)	Acid heteropolysaccharide from gum	Murine peritoneal M ϕ	Phagocytosis and ROS	Negative
<i>Angelica gigas Nakai</i> (당귀)	Angelan	Murine RAW 264.7 M ϕ	↑ iNOS, IL-1 β and TNF- α	Negative
<i>Arnica montana</i> (치커리꽃)	Arabinogalactan (Mr 95-100 kDa)	Murine peritoneal M ϕ	TNF- α	Not tested
<i>Astragalus membranaceus</i> (황기)	Astragalus PS (Mr 1.5-3500 kDa)	Murine peritoneal M ϕ	IL-1 β and TNF- α	Negative
<i>Avena sativa</i> (귀리)	ObetaG [β (1-3,1-4)-glucan]	Murine P338D1 M ϕ	IL-1 and TNF- α	Negative
<i>Bupleurum falcatum</i> L. (시호)	Bupleuran 2IIb (pectic PS)	Murine peritoneal M ϕ	Fc receptor expression	Not tested
<i>Carthamus tinctorius</i> (홍화잎꽃)	SF1 and SF2 (Mr > 100 kDa)	Murine peritoneal M ϕ	TNF- α and NO	Negative
<i>Celostia argentea</i> (렌드라과)	Celostan (acidic PS from seeds)	Murine J774.1 M ϕ , human monocytes	↑ IL-1 β and NO	Negative
<i>Centrosema pubescens</i> (벤트로)	CPI (Mr 2 kDa), CP2 (Mr 375 kDa)	Murine phagocytes	Phagocytosis	Not tested
<i>Chelidonium majus</i> (예기풍풀)	CM-Ala (protein-bound PS)	Murine peritoneal M ϕ	NO	Negative
<i>Crocus sativus</i> (사프란)	Proteoglycan	Murine peritoneal M ϕ	NO	Not tested
<i>Curcuma zedoaria</i> (올금)	CZ-1-III	Murine peritoneal M ϕ ; murine RAW 264.7 M ϕ	ROS, NO and TNF- α	Negative
<i>Dioscorea batatas</i> (참마)	Mucopolysaccharide	Murine peritoneal M ϕ	↑ MPO activity, ROS, NO, TNF- α and cytotoxicity	Not tested
<i>Dipsacus asperoides</i> (속단과 식물)	DAP-1 (PS-protein complex from roots)	Murine peritoneal M ϕ	Phagocytosis (protein moiety)	Not tested
<i>Echinacea purpurea</i> (자주청인국)	Arabinogalactan and xyloglucan	Murine peritoneal M ϕ , rat alveolar M ϕ	↑ IL-1, IL-6, TNF- α , IFN β 2, ROS, NO and cytotoxicity; ↑ phagocytosis (oral)	Negative
<i>Glycyne max</i> (콩)	SP-MAFI (PS-protein complex)	Murine peritoneal M ϕ	NO and cytotoxicity	Negative
<i>Glycyrrhiza glabra</i> and <i>Glycyrrhiza uralensis</i> (감초)	PS	Murine peritoneal M ϕ	Glycolysis and IL-1	Negative
<i>Juniperus scopolorum</i> (노간주나무)	Arabinogalactan (Mr 200-680 kDa)	Murine peritoneal M ϕ	↑ NO, IL-1 and phagocytosis	Negative
<i>Larix occidentalis</i> (요칼나무)	Arabinogalactan	murine J774.1 M ϕ , human monocyte	↑ sTNF- α and IL-10	Negative
<i>Mahonia aquifolium</i> (벨삼청)	PS from stem bark	Human monocytes	TNF- α , IL-1 β and IL-6	Negative
<i>Morinda citrifolia</i> (노니)	Arabinogalactan	Human THP-1 M ϕ	IL-8	Not tested
<i>Panax ginseng</i> (인삼)	Ginsan and panaxanes	Murine peritoneal M ϕ	↑ NO, IFN- γ , IL-1 β , IL-12 and TNF- α	Negative
<i>Panax notoginseng</i> (삼칠근)	Ginsenan S-IIA	Human THP-1 M ϕ	phagocytosis and cytotoxicity	Negative
<i>Panax quinquefolius</i> (미국인삼)	Arabinogalactan (Mr 37-760 kDa)	Murine peritoneal M ϕ	↑ IL-8	Negative
<i>Perilla frutescens</i> var. <i>crispa</i> (소엽)	Arabinogalactan	Rat alveolar M ϕ	TNF- α	Negative
	PFB-1-0	Murine peritoneal M ϕ	↑ phagocytosis, NO, and TNF- α ↑	Negative
<i>Pinus parviflora</i> (삼차나무)	Acid PS from pine cones	Murine J774.1 M ϕ	↑ M ϕ differentiation	Negative
<i>Plantago ovata</i> (질경이)	Mucopolysaccharides	Yorkshire pig M ϕ	↑ M ϕ activation	Not tested
<i>Platycodon grandiflorus</i> (도라지)	PS from radix	Murine peritoneal M ϕ ; murine RAW 264.7 M ϕ	↑ NO, IL-1 β , TNF- α and IL-6	Negative
<i>Prunella vulgaris</i> (꽃풀/하교초)	PV2	Murine RAW 264.7 M ϕ	↑ NO and ROS	Negative
<i>Silene vulgaris</i> (식물과 식물)	Callus acidic arabinogalactan C1 and pectic PS (P1-3)	Rat peritoneal M ϕ , human monocytes	↑ Phagocytosis and lysosomal activity	Not tested
<i>Trigonella foenum-graecum</i> (호로파)	Galactomannan	Rat peritoneal M ϕ	↑ Phagocytosis	Not tested
<i>Tripterygium wilfordii</i> (미역줄나무)	PS (Mr 22 kDa)	Human THP-1 M ϕ	↑ LPS stimulatory effects on TNF- α and adhesion molecule expression	Negative

Abbreviations: M ϕ , macrophages; PS, polysaccharides. ^a Where applicable, the route of administration is indicated as oral or intra-peritoneal (i.p.).



생산을 촉진시켰다(그림 3 참조). 대표적 활성다당으로 이러한 일반적인 활성의 예로써, 노간주나무(*Juniperus scopolorum*)의 열매에서 추출한 arabinogalactan 다당을 들 수 있다. 본 다당의 인간 및 생쥐 유래 대식세포에 대하여 강력한 면역증진 활성을 보이는데 iNOS 발현과 NO 생산의 유도, ROS 생산 촉진, 염증성 cytokine(IL-1, IL-6, IL-12 및 TNF- α) 및 비염증성 cytokine(IL-10)의 생산 증가를 유도한다고 알려져 있다(35). 흥미롭게도 동일 식물종에서 분리한 다른 다당들은 arabinogalactan과는 다른 신호전달 경로(signal transduction pathway)를 경유하여 대식세포를 활성화시킨다고 보고되어 있다. 또 다른 예로써 석죽과 식물(*Silene vulgaris*)의 펙틴 다당에 의한 대식세포 myeloperoxidase 활성의 증진에는 세포의 Ca⁺을 필수적으로 요구하지만 같은 식물의 cal-*lus* arabinogalactan에 의한 활성화에는 이를 요구하지 않았다고 보고되고 있다(36). 식물 다당은 대식세포의 활성화 뿐 만 아니라, 면역반응의 초기에 중요한 역할을 하고 있는 보체계(complement system)의 강력한 활성인자(anti-complementary activity, 항보체 활성)이다(37,38). 그러나 항보체 활성은 모든 arabinogalactan 다당이 갖는 공통적 활성은 아니며, 노간주나무 열매 유래의 다당에서는 본 활성이 관찰되지 않는다고(35).

많은 종류의 식물 다당이 대식세포의 기능을 활성화시키는 것으로 보고되고 있지만, 간혹 이와는 반대의 예외적 특성을 보이는 경우도 있다. 예를 들어 Luke 등은(39) 미역줄나무(뇌공등, *Tripterygium wilfordii*) 유래의 다당이 인간 단핵구 THP-1 cell에서 TNF- α 의 생산과 CD-11c, CD-18, CD-14 및 CD54와 같은 부착인자(adhesion molecule)의 발현을 저해한다고 보고한 바 있으며, 속단과 식물(*Dipsacus asperoides*)의 뿌리에서 분리한 다당-단백 복합체는 대식세포의 탐식기능을 저해하며, 이러한 저해활성이 복합체(complex) 중 단백질 영역에 존재한다고 보고되기도 하였다(40). 한편 겨우살이(*Viscum album*)로부터 추출된 다당의 경우, 과립구 및 대식세포의 탐식능의 활성화 또는 저해 중 어느쪽에도 영향을 주지 않는다고 보고된 바 있다(41).

대식세포에 대한 활성화 기능 외에도 식물 다당은 대식세포 증식기능(macrophage hematopoiesis)을 유도한다고 보고되어 있고 예를 들어 Song 등은(42) 애기뿔풀(*Chelidonium majus*)에서 분리한 단백 결합 다당을 *in vivo* 처리하였을 때, 투여 동물에서 많은 granulocyte/macrophage colony forming cell의 증가가 관찰된다고 보고하였으며 알로에(*Aloe barbadensis*)에서 분리한 β -(1,4) 결합 아세틸화 mannan인 CARN-750을 피하 주사하였을 때, 높은 조혈활성과 단핵구의 증가를 보였다고 보고하였다(43). Liao 등은 대두(*Glycine max*)에서 분리한 분자량 480 kDa의 α (1- α)-D-glucan 다당이 단핵구의 cytokine 생산을 증가시켜 인간 leukemic U937 세포주의 분화를 간접적으로 유도하였다고 보고(44)하기도 하였다. 한편 버섯류인 동충하초(*Cordyceps sinensis*) 다당도 U937 세포주에 비슷한 활성을 보였다는 보고도 있다(45). 따라서 이들 결과로 미루어 볼 때 식물기원 다당의 면역조절 활성은 대식세포의 활성화 뿐 만 아니라 세포의 증식 및 분화에도 영향을 주고 있음이 분명하다고 할 수 있다.

V. 식물 다당에 의한 대식세포 활성화와 관련된 신호전달 체제

식물다당에 의한 대식세포 활성화는 대식세포의 특이 수용체(specific receptor)에 다당 분자가 인식(recognition)되면서 매개된다고 생각되고 있다. 이들 수용체는 pattern recognition 분자로 알려진 세포막결합 단백질로 면역반응 초기에 외부에서 들어온 ligand를 인식할 수 있는 분자이다(46). 특히 macrophage는 toll-like receptor 4(TLR4), CD14, complement receptor 3(CR3; CD11b/CD18, Mac-1 또는 $\alpha_M\beta_2$ integrin)으로 알려져 있기도 함), scavenger receptor, dectin-1 및 mannose receptor를 경유하여 식물 기원의 다당 또는 당단백질과 결합이 가능하다(47-49). 이들 수용체의 활성화는 일련의 연속된 세포내 신호전달을 유도하고 결과적으로 핵 내에서 특정 유전자의 전사의 활성화 및 염증성 cytokine의 생산 등으로 이어지게 된다(그림 4 참조). 예를 들어 Ando 등은 홍화

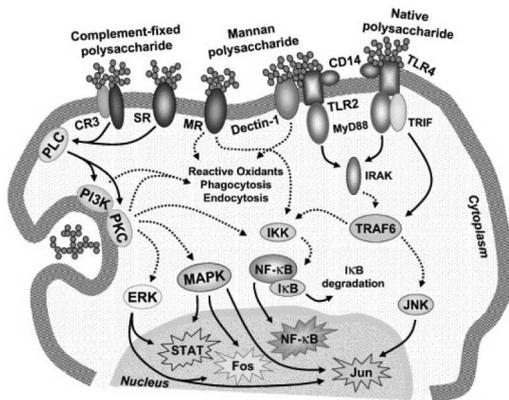


그림 4. 식물 기원의 다당에 의한 대식세포 활성화 및 가능한 관련 신호전달 체계.

식물기원의 다당들은 complement receptor 3(CR3), mannanose receptor(MR), scavenger receptor(SR), Dectin-1 및 toll-like receptor 4(TLR4)를 경유, 대식세포를 활성화할 수 있다. 식물 다당들은 탐식되어 미지의 세포내 반응의 활성화를 유도할 수도 있으며, cluster를 형성하여 서로 다른 signal receptor를 동시에 결합할 수도 있다(예, TLR4-CD14, Dectin-1 - TLR2 or CR3 - CD14), SR 및 CR3-활성화 신호전달 경로는 phospholipase C(PLC)를 활성화하고 그 산물은 protein kinase C(PKC) 및 phosphoinositide-3-kinase(PI3K)의 활성을 유도하여 mitogen-activated protein kinase(MAPK), extracellular signal regulated kinase(ERK) 및 nuclear factor- κ B (NF- κ B)의 활성화까지 이어지게 된다. 결국 이들 경로는 gene transcription을 유도하게 된다. MR은 대식세포의 탐식능, 활성산화물 생산, endocytosis 및 NF- κ B를 활성화시킨다. 식물 다당의 TLR4에의 결합은 adaptor myeloid differentiation protein 88(MyD88)를 경유하여 IL-1R-associated kinase(IRAK)의 활성화를 유도하며 후속적으로 TNF receptor-associated factor 6(TrAF-6)의 활성화를 유도하고 MAP kinases(e.g. p38 and JNK) 및 NF- κ B를 활성화시킨다. 전사 경로(transcription pathway)의 활성화는 pro-inflammatory cytokines와 inducible nitric oxide synthase(iNOS)의 발현을 유도하게 된다. Abbreviations: I κ B, inhibitor of NF- κ B; IKK, I κ B kinase; JNK, Jun N-terminal kinase; STAT, signal transducers and activators of transcription.

(잇꽃, *Carthamus tinctorius*) 유래 다당 SF-1 및 SF-2가 TLR4를 경유하여 대식세포를 활성화하며, 주로 I κ B의 분해와 NF- κ B의 활성화를 유도, TNF- α 및 NO 생산을 자극한다고 보고하였다(50). 더구나 이 반응은 TLR4 유전자에 point mutation을 갖는 C3H/HeJ mouse의 복강 유래 대식세포에서는 일어나지 않음을

보고하고 있어, 이들 활성화 경로가 TLR4를 경유함을 확인하게 하고 있다. 비슷한 예로써 황기(*Astragalus membranaceus*)로부터 분리한 다당도 C3H/HeJ mouse의 복강 대식세포에서는 반응하지 않음이 보고된 바 있는데 이러한 사실은 다당 매개의 대식세포 활성화에는 TLR4가 관여함을 반증하고 있다(49).

CD14은 Gram 음성 세균 유래 lipopolysaccharide(LPS)의 고친화성 수용체(29)이고, CR3는 보체활성인자가 결합된 입자[complement(C3b)-opsonized particle], 즉 β -glucan이나 미생물 입자의 수용체이다(51). CR3는 glucose외에 mannose 또는 N-acetyl-D-glucosamine을 함유하는 다당과 특이적으로 결합 가능하다(52). CD14과 CR3는 식물다당에 대한 반응에 참여하는 것으로 알려져 있는데, 예를 들어 도라지(*Platycodon grandiflorum*)로부터 추출한 다당에 의한 대식세포의 NO생산은 anti-CD14 또는 anti-CD11b 항체에 의해 저해를 받는다. 이러한 사실은 이들 표면 수용체 분자가 다당의 결합부위임을 나타낸다고 할 수 있다(53). CD14과 CR3는 참당귀(*Angelica gigas Nakai*)에서 정제한 angelan으로 처리한 mouse 복강 대식세포에서 NF- κ B/Rel의 활성화를 이끄는 일련의 신호전달에 관련되어 있다고 보고된 바 있다(54). 또한 angelan으로 RAW 264.7 cell을 처리하였을 때, extracellular signal-regulated kinases (ERK) 1, 2 및 p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK)는 강력히 활성화시켰으나, stress-activated protein kinase/c-Jun NH2 terminal kinase (SAPK/JNK)는 활성화되지 않는 것으로 보고되어 있다(55,56). Angelan은 또한 I κ B 단백질의 분해와 NF- κ B/Rel(p65, c-rel 및 p50) 단백질의 핵으로의 이동을 활성화시켜, iNOS 유전자의 발현을 유도시키는 것으로 보고되기도 하였다(54,57). 이와 유사하게 가시오가피(*Acanthopanax senticosus*) 유래 다당은 RAW 264.7 Cell ERK1/2, p38 MAPK 및 JNK를 활성화시켰다(58). 또한 알로에(*A. barbadensis*)에서 분리한 Aloveride는 THP-1 cell에서 NF- κ B 발현을 증가시키고 IL-1 β 및 TNF- α 를 encoding하는 mRNA의 발현을 유도하였으며(59), 샤프란(*Crocus sativus*) 유래 proteoglycan은 protein kinase C 와 NF- κ B를 활성

화 하였다는 보고도 있다(60). 식물다당에 의한 대식 세포 반응은 때로 첨가된 cytokine에 의해서 조절되기도 한다. 예를 들어 알로에 다당인 acemannan과 IFN- γ 의 병용처리는 Bcl-2 발현의 억제에 의해 RAW 264.7 cell의 apoptosis를 유도하는 것으로 보고된 바 있다(61).

식물 다당에 의한 대식세포의 활성화는 endocytosis-dependent pathway를 경유하여 일어날 수도 있다. (그림 5 참조) 이러한 사실은 다당이 대식세포의 수용체와 결합 후, 세포내로 이입됨을 의미하며 이입된 다당은 lysosome의 가수분해 효소들에 의해 세포내 분해를 받기 쉬운 상태가 된다. 그러나 전분이나 glycogen과 달리 대부분의 식물 다당들은 고등동물의 효소체계에 의해 쉽게 분해되지 않는다(62). 결과적으로 이렇게 부분적으로 분해된 다당은 대식세포에 대해 수용체-의존 신호전달과 유사한 작용을 하게 된다(63). 예를 들어 질경이(차전초, *Plantago ovato*)의 점질다당 입자를 Yorkshire 돼지에 근육주사하면 7일 후, 이들이 침윤된 대식세포가 유도되며, 21일 후에는 주사 부위에서 이들 입자가 전혀 발견되지 않는다고 보고된 바 있다(64).

식물다당으로 대식세포를 처리하면 식물다당을 인식하는 수용체를 포함하여 다양한 세포 표면 수용체의 발현이 조절된다는 보고도 있다. 예를 들어 인삼(the roots of *Panax ginseng*)으로 분리한 다당인 ginsan은 CD14의 발현은 증가하고 반대로 CR3의 발현

은 감소한다고 알려져 있다(65). 또한 생약재인 시호(the roots of *Bupleurum falcatum* L.)에서 분리한 다당, bupleuran 2IIb와 bupleuran 2IIc는 protein kinase A나 protein kinase C 경로가 관여되지 않은 Ca²⁺/calmodulin-dependent mechanism에 의해 대식세포에서 Fc-receptor의 발현을 촉진하며(66), 인삼잎(the leaves of *P. ginseng*) 유래 펙틴다당인 RG-II 또한 대식세포 Fc-receptor 발현을 증진시킨다고 보고되어 있다(67).

Endotoxin(내독소, LPS)은 식물체 다당에 혼입될 수 있는 잘 알려진 세균기원의 면역 활성인자(immunomodulator)이다. 이들은 다당 시료 제조 시, 미량 혼입되어 대식세포의 활성화를 유도할 수 있기 때문에 식물 다당이 갖는 대식세포의 활성능이 세균 유래의 endotoxin(LPS 또는 Lipid A-associated protein)에 기인한 것이 아닌가에 대한 의구심이 있어온 것이 사실이다. 그러나 표 1에도 제시한 바와 같이, 대부분의 연구에서 세균 오염이 평가되고 화학적 또는 생물학적 분석법에 의해 LPS의 혼입 여부가 분석되었음을 보고하고 있다. 많은 연구에서 3 β -hydroxymyristate의 분석(59), polymyxin B 처리(58), limulus amebocyte lysate assay(49) 또는 TLR4를 encoding하는 유전자의 돌연변이로 LPS에 비감수성인 C3H/HeJ mouse로 부터 분리한 대식세포의 사용(50)에 의해 이러한 문제점들을 해소시키고 있다. 따라서 대부분의 경우에 있어 식물 기원의 다당이 갖는 대식세포 면역활성화는 endotoxin에 기인하는 것이 아니라 다당이 갖는 활성임이 명백하다고 할 수 있다.

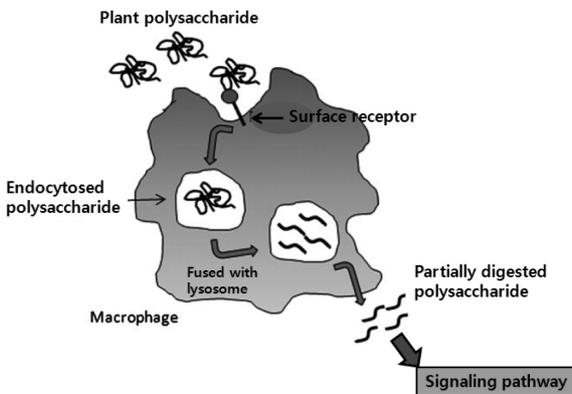


그림 5. 대식세포에 의한 식물유래 다당의 흡수와 이에 따른 활성화

VI. 맺음말

본 논문에서 언급한 여러 실험결과로부터 식물 유래의 다당, 특히 열수로 추출이 용이한 pectin과 pectic polysaccharide 또는 이들의 분해물(arabinogalactan 등)들은 대식세포를 활성화하여 면역기능을 증진시키고 이를 통하여 항암 효과, 상처 치료 및 또 다른 치료 효과를 나타냄을 알 수 있었다. 식물 다당이 갖는 대식세포 면역활성화 작용은 펙틴 다당 분자내의 homogalacturonan 보다는 rhamnogalacturonan I(galac-

tan, arabinan 및 arabinogalactan 등으로 고도로 분지된 영역) 및 rhamnogalacturonan II 등 특정 구조 혹은 그들의 미세구조에 의해 결정되는 것으로 판단되고 있다(그림 2 및 표 1). 이제까지 보고된 많은 연구에서 알 수 있듯이 식물 다당이 갖는 면역활성에 대해서는 비교적 높은 수준과 양적 결과를 제시하고 있으나, 이들의 상세구조 또는 구조와 기능의 상관관계(structure/function relationship)에 대한 연구는 상대적으로 미진하다 할 수 있다. 특히 대부분의 약리활성들이 소위 펙틴 중 rhamnogalacturonan으로 불리고 있는 분지영역(ramified region, hairy region)에서 관찰되고 있다는 사실은 활성을 발현하는데 필수적으로 요구되는 구조의 정확한 서열과 분지쇄(side chains)의 미세구조에 대한 연구가 시급하다는 사실을 보여주고 있다. 식물 다당이 갖는 대식세포의 활성화에는 CD14, CR3, toll-like receptors, scavenger receptor 및 dectin-1과 같은 대식세포 표면 수용체와의 결합이 필수적으로 요구되고, 이를 통해 세포 내부로의 일련의 신호 전달이 진행되어 최종적으로 대식세포의 활성화가 이루어진다. 중요한 사실은 미생물 기원의 다당인 LPS도 동일한 수용체들을 인지하여 면역계를 활성화하며, 따라서 식물과 미생물 다당에 의한 활성화는 비슷한 경로를 통해 이루어진다는 사실이다. 진화론적으로도 완전히 다른 식물과 세균의 다당이 대식세포에서 공통 수용체를 인식하고 비슷한 면역 활성화 반응을 보이는 것은 새로운 식물기원의 치료제와 보조 물질을 개발하고자 하는 우리에게 있어서는 큰 기회가 될 수 있으며, 이들 물질들은 면역계에 대해 유용한 조절활성을 소유할 수 있다는 사실을 명백하게 한다고 할 수 있다. 2011년 12월말을 기준으로 한국 식품의약품안전청이 개별인정형으로 허가한 기능성 원료는 총 165종(동일한 원료에서 2개 이상 기능성이 인정된 경우가 합산)으로 이중에서 '면역력 증진'을 기능성으로 하는 원료는 8종에 불과하다. 또한 이들 중 대부분은 세균, 효모 및 버섯균 유래의 미생물 유래 다당을 기본으로 하는 원료임을 감안할 때 본 논문에서 제시한 바와 같이 식물 유래의 면역활성 다당이 새로운 건식식 소재 또는 의약품으로 개발될 수 있는 가능성은 매우 높다고 할 수 있다. 그러나 이러한 관심과

기대에 비해 국내에서 식물유래 다당류와 이들의 생물활성에 관한 연구는 타 연구에 비해 상대적으로 미흡한 것이 사실이다. 다당류 및 면역 활성화에 대한 지속적인 연구만이 향후 이들을 건강 유지에 유용한 물질로 재창조할 수 있다고 사료되며 이를 기대해 본다.

참고문헌

1. Yamada H. Chemical and pharmacological studies on efficacy of Japanese and Chinese herbal medicines. *Kitasato Arch. Exp. Med.* 65: 1-22 (1992)
2. Franz G. Polysaccharides in pharmacy: Current applications and future concepts. *Planta Med.* 55: 493-497 (1989)
3. Yamada H, Kiyohara H. Bioactive polysaccharides from Chinese herbal medicines. *Chinese Med.* 3: 104-124 (1989)
4. Srivastava R, Kulshreshtha DK. Bioactive polysaccharides from plant. *Phytochemistry* 28: 2877-2883 (1989)
5. Wagner H. Search for plant derived natural products with immunostimulatory activity (Recent advances). *Pure Appl. Chem.* 62: 1217-1222 (1990)
6. Tzianabos AO. Polysaccharide immunomodulators as therapeutic agents: structural aspects and biological function. *Clin. Microbiol. Rev.* 13: 523-533 (2000)
7. Paulsen BS. Plant polysaccharides with immunostimulatory activities. *Curr. Org. Chem.* 5: 939-950 (2001)
8. Wasser SP. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 60: 258-274 (2002)
9. Chihara G. Recent progress in immunopharmacology and therapeutic effects of polysaccharides. *Dev. Biol. Stand.* 77: 191-197 (1992)
10. Wang SY, Hsu ML, Hsu HC, Tzeng CH, Lee SS, Shiao MS, Ho CK. The antitumor effect of *Ganoderma lucidum* is mediated by cytokines released from activated macrophages and T lymphocytes. *Int. J. Cancer* 70: 699-705 (1997)
11. Beutler B. Innate immunity: an overview. *Mol. Immunol.* 40: 845-859 (2004)
12. Carpita NC, Gibeau DM. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. vol. 3, no. 1, pp. 1-30. *Plant Journal*, West Lafayette, USA (1993)
13. Carpita N, McCann M. The cell wall. pp. 52-108. In: *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists, Maryland, Md, USA (2000)
14. Ridley BL, O' Neill MA, Mohnen D. Pectin: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. *Phytochemistry* 57: 929-967 (2001)
15. O' Neill M, Albersheim P, Darvill A. The pectic polysaccha-



- rides of primary cell walls. pp. 415-441. In: Methods in Plant Biochemistry. Carbohydrates, Academic, London, England (1990)
16. O' Neill MA, Ishii T, Albersheim P, Darvill AG. Rhamnogalacturonan II: structure and function of a borate cross-linked cell wall pectic polysaccharide. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55: 109-139 (2004)
 17. Engelsen SB, Cros S, Mackie W, Perez S. A molecular builder for carbohydrates: application to polysaccharides and complex carbohydrates. *Biopolymers* 39: 417-433 (1996)
 18. Ishii T, Matsunaga T. Pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II is covalently linked to homogalacturonan. *Phytochemistry* 57: 969-974 (2001)
 19. Perez S, Rodriguez-Carvajal MA, Doco T. A complex plant cell wall polysaccharide: rhamnogalacturonan II. A structure in quest of a function. *Biochimie.* 85: 109-121 (2003)
 20. Srivastava R, Kulshreshtha DK. Bioactive polysaccharides from plant. *Phytochemistry* 28: 2877-2883 (1989)
 21. Janeway CA, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu. Rev. Immunol.* 20: 197-216 (2002)
 22. Uthaisangsook S, Day NK, Bahna SL, Good RA, Haraguchi S. Innate immunity and its role against infections. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 88: 253-264 (2002)
 23. Birk RW, Gratchev A, Hakiy N, Politz O, Schledzewski K, Guillot P, Orfanos CE, Goerdt S. Alternative activation of antigen-presenting cells: concepts and clinical relevance. *Hautarzt* 52: 193-200 (2001)
 24. Lingen MW. Role of leukocytes and endothelial cells in the development of angiogenesis in inflammation and wound healing. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 125: 67-71 (2001)
 25. Klimp AH, de Vries EG, Scherphof GL, Daemen T. A potential role of macrophage activation in the treatment of cancer. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 44: 143-161 (2002)
 26. Gruchalla RS, Jones J. Combating high-priority biological agents: what to do with drug-allergic patients and those for whom vaccination is contraindicated?. *J. Allergy Clin. Immunol.* 112: 675-682 (2003)
 27. Hackett CJ. Innate immune activation as a broad-spectrum biodefense strategy: prospects and research challenges. *J. Allergy Clin. Immunol.* 112: 686-694 (2003)
 28. Lolis E, Bucala R. Therapeutic approaches to innate immunity: severe sepsis and septic shock. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2: 635-645 (2003)
 29. Heumann D, Roger T. Initial responses to endotoxins and gram-negative bacteria. *Clin. Chim. Acta.* 323: 59-72 (2002)
 30. Fujihara M, Muroi M, Tanamoto K, Suzuki T, Azuma H, Ikeda H. Molecular mechanisms of macrophage activation and deactivation by lipopolysaccharide: roles of the receptor complex. *Pharmacol. Ther.* 100: 171-194 (2003)
 31. Herre J, Willment JA, Gordon S, Brown GD. The role of dectin-1 in antifungal immunity. *Crit. Rev. Immunol* 24: 193-203 (2004)
 32. Ovodov I. Polysaccharides of flower plants: structure and physiological activity. *Bioorg. Khim.* 24: 483-501 (1998)
 33. Sherenesheva NI, Fin'ko VE, Blanko FF, Alieva TA, Bedrina EN, Gogoleva IA, Klochkova TI. Anticarcinogenic effect of palustran on development of tumors induced by 3-(1-alpha-L-arabinopyranosyl)-1-methyl-1-nitrosourea (AMNU) in rats. *Bull. Exp. Biol. Med.* 125: 566-568 (1998)
 34. Lazareva EB, Spiridonova TG, Chernega EN, Plesskaia LG, Grunenokova IV, Smirnov SV, Men'shikov DD. Topical pectins for the treatment of burn wounds. *Antibiot. Khimioter* 47: 9-13 (2002)
 35. Schepetkin IA, Faulkner CL, Nelson-Overton LK, Wiley JA, Quinn MT. Macrophage immunomodulatory activity of polysaccharides isolated from *Juniperus scopolorum*. *Int. Immunopharmacol.* 5: 1783-1799 (2005)
 36. Popov SV, Popova GY, Ovodova RG, Bushneva OA, Ovodov YS. Effects of polysaccharides from *Silene vulgaris* on phagocytes. *Int. J. Immunopharmacol.* 21: 617-624 (1999)
 37. Diallo D, Paulsen BS, Liljebäck TH, Michaelsen TE. Polysaccharides from the roots of *Entada africana* Guill. et Perr., Mimosaceae, with complement fixing activity. *J. Ethnopharmacol.* 74: 159-171 (2001)
 38. Diallo D, Paulsen BS, Liljebäck TH, Michaelsen TE. The malian medicinal plant *Trichilia emetica*; studies on polysaccharides with complement fixing ability. *J. Ethnopharmacol.* 84: 279-287 (2003)
 39. Luk JM, Lai W, Tam P, Koo MW. Suppression of cytokine production and cell adhesion molecule expression in human monocytic cell line THP-1 by *Tripterygium wilfordii* polysaccharide moiety. *Life Sci.* 67: 155-163 (2000)
 40. Zhang Y, Kiyohara H, Matsumoto T, Yamada H. Fractionation and chemical properties of immunomodulating polysaccharides from roots of *Dipsacus asperoides*. *Planta Med.* 63: 393-399 (1997)
 41. Jordan E, Wagner H. Structure and properties of polysaccharides from *Viscum album* (L.). *Oncology* 43: 8-15 (1986)
 42. Song JY, Yang HO, Pyo SN, Jung IS, Yi SY, Yun YS. Immunomodulatory activity of protein-bound polysaccharide extracted from *Chelidonium majus*. *Arch. Pharm. Res.* 25: 158-164 (2002)
 43. Egger SF, Brown GS, Kelsey LS, Yates KM, Rosenberg LJ, Talmadge JE. Hematopoietic augmentation by a β -(1,4)-linked mannan. *Cancer Immunol. Immunother.* 43: 195-205 (1996)
 44. Liao HF, Chou CJ, Wu SH, Khoo KH, Chen CF, Wang SY. Isolation and characterization of an active compound from black soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] and its effect on pro-

- liferation and differentiation of human leukemic U937 cells. *Anti-cancer Drugs* 12: 841-846 (2001)
45. Chen YJ, Shiao MS, Lee SS, Wang SY. Effect of *Cordyceps sinensis* on the proliferation and differentiation of human leukemic U937 cells. *Life Sci.* 60: 2349-2359 (1997)
 46. Gordon S. Pattern recognition receptors: doubling up for the innate immune response. *Cell* 111: 927-930 (2002)
 47. Rice PJ, Kelley JL, Kogan G, Ensley HE, Kalbfleisch JH, Browder IW, Williams DL. Human monocyte scavenger receptors are pattern recognition receptors for (1→3)- β -D-glucans. *J. Leukoc. Biol.* 72: 140-146 (2002)
 48. Taylor PR, Brown GD, Reid DM, Willment JA, Martinez-Pomares L, Gordon S, Wong SY. The β -glucan receptor, dectin-1, is predominantly expressed on the surface of cells of the monocyte/macrophage and neutrophil lineages. *J. Immunol.* 169: 3876-3882 (2002)
 49. Shao BM, Xu W, Dai H, Tu P, Li Z, Gao XM. A study on the immune receptors for polysaccharides from the roots of *Astragalus membranaceus*, a Chinese medicinal herb. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 320: 1103-1111 (2004)
 50. Ando I, Tsukumo Y, Wakabayashi T, Akashi S, Miyake K, Kataoka T, Nagai K. Safflower polysaccharides activate the transcription factor NF- κ B via Toll-like receptor 4 and induce cytokine production by macrophages. *Int. Immunopharmacol.* 2: 1155-1162 (2002)
 51. Ross GD. Regulation of the adhesion versus cytotoxic functions of the Mac-1/CR3/ α _M β ₂-integrin glycoprotein. *Crit. Rev. Immunol.* 20: 197-222 (2000)
 52. Thornton BP, Vetvicka V, Pitman M, Goldman RC, Ross GD. Analysis of the sugar specificity and molecular location of the β -glucan-binding lectin site of complement receptor type 3 (CD11b/CD18). *J. Immunol.* 156: 1235-1246 (1996)
 53. Han SB, Park SH, Lee KH, Lee CW, Lee SH, Kim HC, Kim YS, Lee HS, Kim HM. Polysaccharide isolated from the radix of *Platycodon grandiflorum* selectively activates B cells and macrophages but not T cells. *Immunopharmacology* 11: 1969-1978 (2001)
 54. Jeon YJ, Han SB, Ahn KS, Kim HM. Activation of NF- κ B/Rel in angellan-stimulated macrophages. *Immunopharmacology* 43: 1-9 (1999)
 55. Jeon YJ, Kim HM. Experimental evidences and signal transduction pathways involved in the activation of NF- κ B/Rel by angellan in murine macrophages. *Int. Immunopharmacol.* 7: 1331- 1339 (2001)
 56. Jeon YJ, Han SB, Lee SH, Kim HC, Ahn KS, Kim HM. Activation of mitogen-activated protein kinase pathways by angellan in murine macrophages. *Int. Immunopharmacol.* 7: 237-245 (2001)
 57. Jeon YJ, Han SB, Ahn KS, Kim HM. Differential activation of murine macrophages by angellan and LPS. *Immunopharmacology* 49: 275-284 (2000)
 58. Han SB, Yoon YD, Ahn HJ, Lee HS, Lee CW, Yoon WK, Park SK, Kim HM. Toll-like receptor-mediated activation of B cells and macrophages by polysaccharide isolated from cell culture of *Acanthopanax senticosus*. *Int. Immunopharmacol.* 3: 1301-1312 (2003)
 59. Pugh N, Ross SA, ElSohly MA, Pasco DS. Characterization of Aloeride, a new high-molecular-weight polysaccharide from Aloe vera with potent immunostimulatory activity. *J. Agric. Food Chem.* 49: 1030-1034 (2001)
 60. Escribano J, Diaz-Guerra MJ, Riese HH, Ontanon J, Garcia-Olmo D, Garcia-Olmo DC, Rubio A, Fernández JA. In vitro activation of macrophages by a novel proteoglycan isolated from corms of *Crocus sativus* L. *Cancer Lett.* 144: 107-114 (1999)
 61. Ramamoorthy L, Tizard IR. Induction of apoptosis in a macrophage cell line RAW 264.7 by acemannan, a β -(1,4)-acetylated mannan. *Mol. Pharmacol.* 53: 415-421 (1998)
 62. Tharanathan RN. Food-derived carbohydrates-structural complexity and functional diversity. *Crit. Rev. Biotechnol.* 22: 65-84 (2002)
 63. Mehta NG. Recognition of self and nonself, the crucial role of phagocytosis and lysosomal destruction of antigen. *Med. Hypotheses* 2: 141-146 (1976)
 64. Westerhof W, Das PK, Middelkoop E, Verschoor J, Storey L, Regnier C. Mucopolysaccharides from psyllium involved in wound healing. *Drugs Exp. Clin. Res.* 27: 165-175 (2001)
 65. Shin JY, Song JY, Yun YS, Yang HO, Rhee DK, Pyo S. Immunostimulating effects of acidic polysaccharides extract of *Panax ginseng* on macrophage function. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 24: 469-482 (2002)
 66. Matsumoto T, Yamada H. Regulation of immune complexes binding of macrophages by pectic polysaccharide from *Bupleurum falcatum* L.: pharmacological evidence for the requirement of intracellular calcium/calmodulin on Fc receptor up-regulation by bupleuran 2IIIb. *J. Pharm. Pharmacol.* 47: 152-156 (1995)
 67. Shin KS, Kiyohara H, Matsumoto T, Yamada H. Rhamnogalacturonan II from the leaves of *Panax ginseng* C.A. Meyer as a macrophage Fc receptor expression-enhancing polysaccharide. *Carbohydr. Res.* 300: 239-249 (1997)