

## 막걸리에서 분리한 다당의 면역자극 활성화에 미치는 효과

조장원<sup>1</sup> · 이영경<sup>1</sup> · 이영철<sup>1</sup> · 김영찬<sup>1</sup> · 신광순<sup>2</sup> · 남소현<sup>1</sup> · 홍희도<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>한국식품연구원 융합기술연구본부

<sup>2</sup>경기대학교 식품생명공학과

### Immunomodulatory Activity of Crude Polysaccharides from *Makgeolli*

Chang-Won Cho<sup>1</sup>, Young Kyoung Rhee<sup>1</sup>, Young-Chul Lee<sup>1</sup>, Young-Chan Kim<sup>1</sup>,  
Kwang-Soon Shin<sup>2</sup>, So-Hyun Nam<sup>1</sup>, and Hee-Do Hong<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Div. of Convergence Technology, Korea Food Research Institute, Gyeonggi 463-746, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Food Science and Biotechnology, Kyonggi University, Gyeonggi 443-760, Korea

**ABSTRACT** In this study, the immunomodulatory activities of crude polysaccharides from *makgeolli* were investigated. Crude polysaccharides from *makgeolli* (RWW) were isolated by hot water extraction (100°C, 30 min), ethanol precipitation (four volumes of 95% ethanol), dialysis (MWCO: 6,000~8,000), and lyophilization. The major constituents in RWW were neutral sugar (87.3%), uronic acid (2.5%), and protein (10.2%). RWW showed potent anti-complementary activity as well as increased cell proliferation of RAW 264.7 macrophages. The immunomodulatory effects of RWW were also analyzed based on cytokine production of macrophages. Macrophages stimulated with RWW produced cytokines such as interleukin (IL)-6, IL-12, and tumor necrosis factor- $\alpha$  in a dose-dependent manner. These data indicate that RWW may have immunomodulatory effects through activation of the complement system and macrophages, which are a part of natural immunity.

**Key words:** *makgeolli*, polysaccharide, immunomodulating activity, anti-complementary activity, macrophage

## 서 론

막걸리는 우리나라 고유의 술로서 천년 이상 제조되어 왔으며 탁주 또는 농주라고도 한다(1). 곡물을 누룩으로 발효하고 여과하지 않아 발효에 관여한 효모나 유산균 등을 포함한 발효산물 전체를 음용하는 세계 유일의 술이다(2). 막걸리는 알코올 함량이 6~8%로 비교적 낮으며 단백질, 식이섬유 등이 풍부하고 비타민 B 복합체, 다양한 유기산과 이노시톨, 아세틸콜린, 리보플라빈 등의 유용한 생리활성 물질 및 10여종의 필수 아미노산을 함유하고 있는 것으로 보고되어 있다(3). 막걸리는 우리나라의 전통 발효식품 중 하나로 영양학적인 가치 외에 항암, 항염증, 심혈관계질환 개선, 전지방세포 분화 억제 등의 기능성을 가지고 있다고 보고된 바 있으나(4-7), 막걸리에서 유래된 다당의 활성화 효과에 대한 연구는 미미한 실정이다.

곡류 또는 과일류로부터 발효된 발효산물로부터 얻어진 다당체들의 생리활성에 관련된 연구로는 포도주, 간장, 감식초로부터 유래한 다당체들이 면역활성에 미치는 영향에 관련된 연구들이 있는데, 포도주와 감식초에서 유래한 활성

다당체의 경우 강력한 항보체활성을 가지고 있다고 보고되었으며(8,9), 재래식 조선간장으로부터 유래한 다당체의 경우 항보체활성뿐만 아니라 쥐의 복강에서 분리한 peritoneal macrophage의 면역조절 관련 cytokine인 interleukin(IL)-6와 IL-12의 분비를 증가시킴으로써 높은 면역증강 효과를 가지고 있는 것으로 확인되었다(10). 특히 발효산물로부터 유래한 다당체들의 경우 발효에 사용되는 미생물 및 곰팡이류가 생산하는 효소에 의한 분해과정을 통해 원료에 존재하고 있는 다당체보다 활성이 높은 형태를 가지는 것으로 보고되고 있다(11). 막걸리 유래 다당체의 경우 다양한 시판 막걸리 및 막걸리박 유래 다당체들의 항보체활성에 관련된 연구가 보고된 바 있지만(12,13), 그 외의 면역활성에 관련된 연구는 미약한 현실이다.

따라서 본 연구에서는 막걸리로부터 다당체를 분리하여 성분분석 및 각종 면역자극 활성화 특히 자연면역계를 구성하고 있는 보체계 및 macrophage에 대한 영향을 평가함으로써 면역자극활성제로서의 막걸리 다당체의 가능성을 살펴 보았다.

## 재료 및 방법

### 막걸리 시료 및 조다당 분리

본 연구에 사용된 시료는 막걸리 제조용 쌀발효원액을 서

울장수막걸리(Jincheon, Korea)에서 제공받아 사용하였다. 쌀발효원액을 실험실용 food mixer(HMF-3300H, Hani, Seoul, Korea)로 분쇄한 후 100°C에서 30분간 가열하여 추출하였다. 추출물을 여과지(8 µm, Whatman, Maidstone, UK)로 여과 후 상등액에 4배 부피의 95% 에탄올을 첨가하고 4°C에 16시간 정도 정치하여 생성된 침전물을 원심분리(6,000 rpm, 30 min) 하여 회수하였다. 침전물을 소량의 증류수에 용해하여 Spectra/Por 투석막(MWCO: 6,000~8,000, Spectrum Laboratories Inc., Compton, CA, USA)을 이용하여 3일간 투석을 행하고 동결건조를 행하여 조다당 시료(RWW)를 얻었다.

### 일반성분 분석 방법

총당 함량은 phenol-sulfuric acid법(14)으로 측정하였다. 즉, 시험관에 시료의 조다당체 분말을 1%(w/v)로 증류수에 녹인 시료용액을 0.45 µm 막필터로 여과하여 여액을 각각 1 mL씩 취하여 5% phenol 1 mL에 잘 혼합시켰다. 여기에 황산 5 mL를 첨가한 후 30분 반응시키고 490 nm에서 흡광도를 측정하여 검량선으로부터 구해진 glucose의 함량으로 총당 함량을 계산하였다. 산성당 함량은 carbazole-sulfuric acid법(15)으로 측정하였다. 시료분말을 1% (w/v) 농도로 증류수로 녹인 시료용액을 0.45 µm 막필터로 여과한 후 여액을 각각 0.5 mL씩 취하고 0.125% carbazole (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 0.25 mL를 가하여 잘 혼합시켰다. 여기에 진한 황산 3 mL를 가하고 85°C water bath에서 15분간 발색시킨 후 525 nm에서 흡광도를 측정하여 검량선으로부터 구해진 β-D-galacturonic acid (Sigma-Aldrich)를 표준물질로 하여 함량을 계산하였다. 단백질 함량 측정은 Bradford method(16)로 측정하였으며 표준물질로는 bovine serum albumin(Sigma-Aldrich)을 사용하였다.

### 항보체활성 평가

항보체활성은 Kabat와 Mayer 방법(17)을 이용하여 시료에 의한 보체 소비(complement consumption) 후 잔존하는 보체에 의한 적혈구 용혈활성에 근거를 둔 complement fixation test로 측정하였다. 즉 증류수에 녹인 시료에 정상인의 혈청과 2% gelatin, 500 µM Ca<sup>2+</sup>, 2 mM Mg<sup>2+</sup>이 함유된 GVB<sup>++</sup>(gelatin veronal buffered saline, pH 7.4) 완충액을 혼합하여 1차 반응시킨 후, 양의 감작적혈구(IgM-sensitized sheep erythrocytes; Biotest Co., Tokyo, Japan)를 가해 2차 반응시키고 phosphate buffered saline(Sigma-Aldrich)을 넣어 반응을 정지시켰다. 반응액을 4°C, 2,500 rpm에서 약 10분간 원심분리 하여 얻어진 상등액을 412 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존 용혈활성을 측정하였다. 다당체의 항보체활성은 대조군의 총 보체용혈(50% total complement hemolysis, TCH<sub>50</sub>, %)에 대한 저지율(inhibition of 50% total complement hemolysis, ITCH<sub>50</sub>,

%)로서 나타내었다.

### 세포 배양

실험에 사용한 대식세포주인 RAW 264.7(KTCC No. 40071) 세포는 한국세포주은행(KTCC, Seoul, Korea)에서 분양받아 사용하였다. RAW 264.7 세포는 10%(v/v) fetal bovine serum(Gibco BRL Co., Grand Island, NY, USA)과 1%(v/v) penicillin-streptomycin(Gibco BRL Co.)을 함유한 DMEM 배지(Gibco BRL Co.)를 이용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub>로 조절된 incubator에서 배양하였다.

### 세포에 대한 독성 측정

막걸리 유래 다당의 RAW 264.7 세포에 대한 독성 측정은 MTT assay로 측정하였다. RAW 264.7 세포를 2×10<sup>5</sup> cell/well의 농도로 조정하여 96 well plate에 분주 후 2시간 동안 배양한다. 이후 배지를 제거하고 시료와 대조군을 처리하여 24시간 배양하였다. 96 well plate의 상등액을 조심스럽게 제거한 후, 0.5 mg/mL MTT[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide; Sigma-Aldrich] 용액을 200 µL씩 첨가하여 4시간 동안 배양하여 formazan을 형성시켰다. 이후 상등액을 제거하고 dimethyl sulfoxide(Sigma-Aldrich) 200 µL를 각 well에 첨가하여 formazan을 녹인 후 ELISA 판독기(Infinite M200 Pro, TECAN, Männedorf, Switzerland)를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### Cytokine의 생산량 측정

배지로 희석시킨 막걸리 다당을 농도별로 세포에 처리하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 24시간 배양한 후, 상등액으로 분비된 IL-6, IL-12, tumor necrosis factor(TNF)-α의 양을 ELISA kit(BD Biosciences, San Diego, CA, USA)을 이용하여 제조사의 지침에 따라 측정하였다.

### 통계처리

실험에서 얻은 모든 data는 SAS 8.0 프로그램(SAS Institute, Cary, NC, USA)을 이용하여 ANOVA 분산분석을 수행하였고, 검정방법은 Duncan의 다중범위법으로 시행하였다.

## 결과 및 고찰

### 막걸리 유래 다당의 화학적 특성

막걸리로부터 열수추출 및 ethanol 침전에 의해 분리한 막걸리 다당체(RWW)의 일반 화학특성을 살펴본 결과는 Table 1과 같다. RWW의 수율은 0.33 g/L로 6종의 시판 막걸리들의 조다당 함량을 보고한 이전의 연구 결과(0.15~1.18 g/L)와 유사하였다(12). RWW는 중성당 87.3%, 산성당 2.5%로 구성되어 있었으며 단백질은 10.2% 존재하였다. 이

**Table 1.** The compositions of polysaccharides from *makgeolli* (RWW)

|                           | RWW      |
|---------------------------|----------|
| Yield (g/L)               | 0.33     |
| Chemical composition (%)  |          |
| Neutral sugar             | 87.3±0.0 |
| Uronic acid <sup>1)</sup> | 2.5±0.0  |
| Protein                   | 10.2±0.0 |

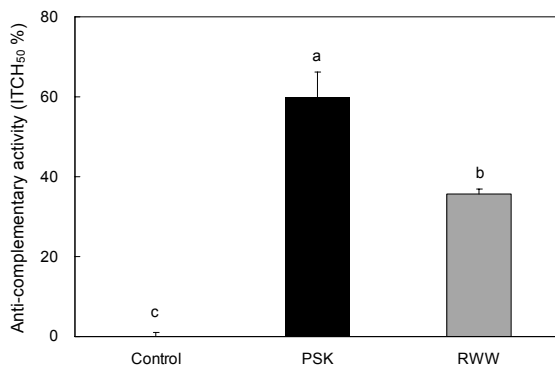
<sup>1)</sup>Uronic acid was consisted of galacturonic acid and glucuronic acid.

러한 결과는 각 시판 막걸리들로부터 분리한 다당체의 화학 특성을 살펴본 Bae 등(12)의 보고와 유사한 결과로, 각 시판 막걸리들의 중성당 함량은 71.21~95.13%, 산성당 함량은 4.87~6.20%, 단백질 함량은 0~23.54%였다.

### 막걸리 유래 다당체의 보체계 활성화능

보체계(complement system)는 박테리아, 곰팡이 또는 바이러스와 같은 외부 침입자를 항체의 존재 또는 비존재 하에 비특이적으로 제거하는 생체의 주요 방어기구이다. 보 체계는 20개 이상의 단백질들로 구성되어 있고 보체의 주요 성분인 C3의 활성화 방법에 따라 크게 고전경로(classical pathway)와 부경로(alternative pathway)로 활성화되는데, 보체계의 활성화는 macrophage와 lymphocyte의 활성화 및 면역강화와 같은 다양한 면역반응과 관련되어 있다(18).

막걸리 유래 다당체에 의한 보체계 활성화능을 측정된 결과, RWW는 1,000 µg/mL에서 ITCH<sub>50</sub>값이 약 36%에 이르는 보체계 활성화능을 보였다(Fig. 1). 이는 보체계의 강력한 활성인자로 알려져 있는 면역활성 다당체인 구름버섯 (*Coriolus versicolor*, 운지) 유래 PSK보다는 상대적으로 낮은 활성이나 RWW가 보체계의 활성인자임을 확인할 수



**Fig. 1.** Anti-complementary activities of RWW. The anti-complementary activity was expressed as the inhibition of 50% total complement hemolysis by Mayer's method. The concentration of RWW was 1,000 µg/mL. PSK, a known immuno-active polysaccharide from *Coriolus versicolor* was used as a positive control. The data were expressed as mean±SD of three separate experiments. Different corresponding letters indicate significant differences at  $P<0.05$  by Duncan's multiple range test.

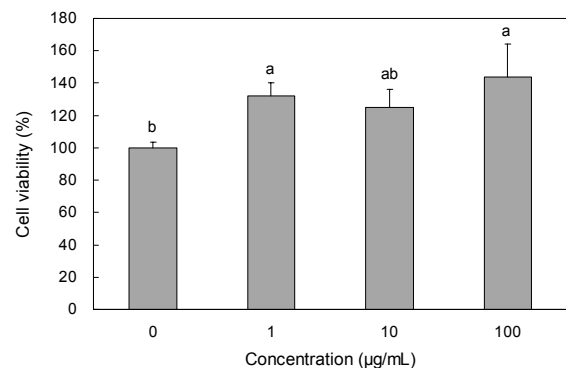
있었다(19). 시판 막걸리 유래 다당체들의 항보체계활성을 보고한 이전의 연구에서는 6종의 시판 막걸리 유래 다당들이 40% 이상의 항보체계활성을 보인 것으로 보고되었다(12).

### 막걸리 유래 다당체의 macrophage에 대한 세포독성

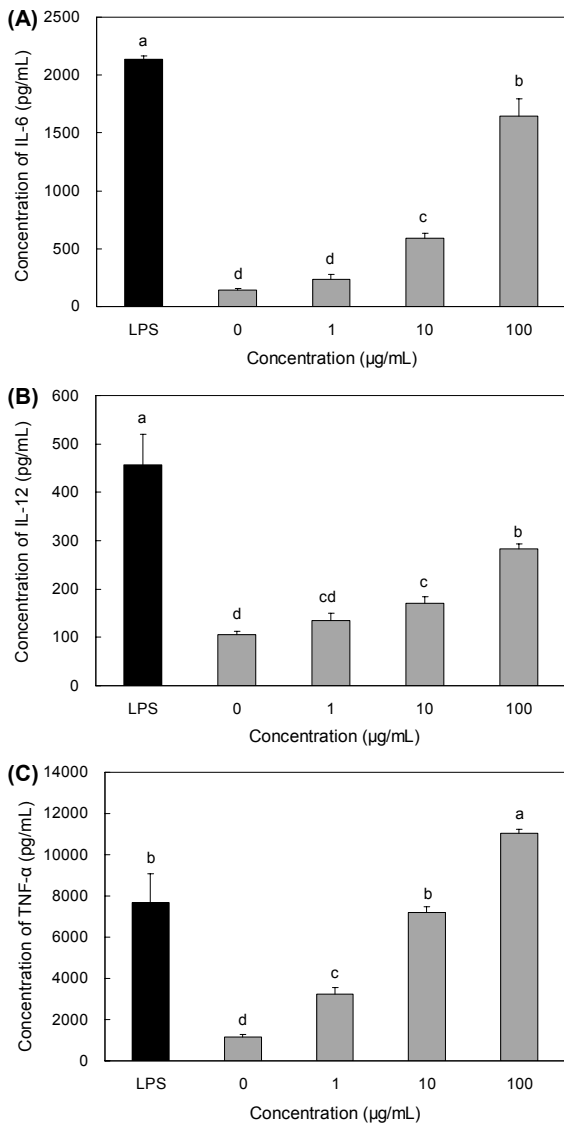
막걸리 유래 다당체 RWW가 RAW 264.7 macrophage에 독성을 가지는지 확인하기 위하여, RWW를 1~100 µg/mL의 농도로 macrophage에 처리한 후 세포의 생존율을 MTT 방법을 이용하여 측정하였다. Macrophage cell에 24시간 RWW를 처리했을 때 모든 농도에서 유의적인 세포사멸이 나타나지 않아 세포독성이 없음을 확인할 수 있었을 뿐만 아니라, 1 µg/mL, 100 µg/mL의 농도에서는 유의적인 세포 증식을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 특히 100 µg/mL의 RWW를 처리했을 경우 43.7%의 macrophage 증식을 나타내었다.

### 막걸리 유래 다당체의 macrophage에 대한 효과

Macrophage의 활성화는 감염성 병원체에 대한 생체방어기전의 시작과 증폭에 중요한 역할을 하기 때문에 선천 면역반응에 있어 가장 중요한 현상 중 하나이다. Macrophage는 감염미생물에 대한 최초 대응으로 phagocytosis(식균작용)를 일으키는데, 이렇게 활성화된 phagocytosis에 의해 선천면역반응이 활성화된다고 알려져 있다(20). 또한 macrophage는 항원제시세포(antigen presenting cell)로써 항원제시작용 및 다양한 면역활성 cytokine을 분비하여 후천적 면역반응을 조절하는 T-lymphocyte와 반응함으로써 이후의 면역반응에도 영향을 준다(21). Cytokine은 면역세포에서 생성되는 단백질 중재자로 외부 항원에 대한 여러 면역세포간의 협력을 중재하므로 이들의 생성과 분비는 면역반응조절에 있어서 매우 중요하다. 현재 12가지 이상의 cytokine들이 규명되었으나 그들의 기능이 모두 밝혀져 있지 않다. Macrophage가 분비하는 대표적인 면역 유도 사



**Fig. 2.** Cell cytotoxicity of the RWW on RAW 264.7 macrophage. Macrophage cells were incubated with various concentrations of RWW for 24 hr. The data were expressed as mean±SD of three separate experiments. Different corresponding letters indicate significant differences at  $P<0.05$  by Duncan's multiple range test.



**Fig. 3.** Effect of RWW on induction of IL-6 (A), IL-12 (B), and TNF- $\alpha$  (C) from activated RAW 264.7 macrophage. Macrophage cells were treated with the indicated concentrations of samples for 24 hr. The level of each cytokine in the supernatants of the cultures was determined by ELISA kits. LPS (2  $\mu$ g/mL) was used as the positive control. The data were expressed as mean $\pm$ SD of three separate experiments. Different corresponding letters indicate significant differences at  $P < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

이토카인에는 IL-6, IL-12, TNF- $\alpha$  등이 있다(22). 막걸리 유래 활성 다당 RWW의 자극에 의한 macrophage의 cytokine 생산을 ELISA 방법으로 측정된 결과 IL-6, IL-12, TNF- $\alpha$ 의 분비를 농도 의존적으로 증가시키는 것으로 확인되었다(Fig. 3). 1, 10, 100  $\mu$ g/mL의 RWW 농도에서 IL-6는 각각 238, 589, 1,649 pg/mL, IL-12는 135, 171, 284 pg/mL, TNF- $\alpha$ 는 3,239, 7,184, 11,047 pg/mL의 분비능을 보였다. 특이할만한 점은 RWW가 100  $\mu$ g/mL의 농도에서 positive control로 사용된 lipopolysaccharide(LPS)를 상회하는 TNF- $\alpha$ 의 분비능을 나타냈다는 점이다. IL-6는

T cell과 macrophage에서 분비되는 cytokine으로 외부 침입인자에 의한 인체 감염 시 면역반응을 촉진시키는 역할을 한다. IL-6와 같은 proinflammatory cytokine의 분비는 감염에 의한 숙주의 생존 및 손상된 조직의 복구에 필수적이라고 알려져 있다(23). 활성화된 macrophage에 의해 주로 분비되는 IL-12는 T cell과 NK cell을 자극하여 interferon(IFN)- $\gamma$ 의 분비를 유도하고 helper T cell(Th) 1 세포 반응을 유도하는데 중요한 역할을 한다. IL-12에 의한 면역 조절은 병원체 및 종양에 대한 다양한 세포매개 면역반응에 있어 중요한 역할을 한다고 알려져 있다(24). TNF- $\alpha$ 는 인체에 침입한 병원체에 대한 숙주의 방어에 관여하며, 또한 IL-1, IL-6, IFNs, transforming growth factors와 granulocyte-monocyte colony-stimulating factor와 같은 cytokine들의 분비를 유도함으로써 인체의 면역반응을 조절한다고 알려져 있다(25).

Macrophage로부터 분비되는 IL-6, IL-12, TNF- $\alpha$ 와 같은 염증성 cytokine들은 인체에 침입한 병원체 및 종양세포들에 대한 제거활성을 증진시킨다는 이전의 연구 결과들을 고려해 보았을 때(26), 막걸리 다당체가 macrophage의 염증성 cytokine들의 생성을 촉진하여 인체의 면역력을 증진시킬 것으로 판단되었다. 앞으로 막걸리 유래 다당을 이용한 동물 및 임상실험을 통하여 면역증진효능, 면역억제에 대한 극복효능 및 그 기전을 입증한다면 전통발효주인 막걸리의 우수성을 알리는 기초자료로 활용할 수 있으리라 생각된다.

### 요 약

본 연구에서는 막걸리로부터 다당을 분리하여 자연면역계를 구성하고 있는 보체계 및 macrophage에 대한 면역자극 활성을 측정하였다. 열수추출한 뒤 ethanol 침전을 통하여 조다당을 추출한 후 특성을 검토한 결과, 막걸리 조 다당체(RWW)의 neutral sugar 함량은 87.3%, uronic acid 함량은 2.5%, protein 함량은 10.2%이었다. RWW는 인체 초기 면역반응에 있어 중요한 역할을 담당하는 보체계에 대한 활성을 나타냈으며, 마우스 RAW 264.7 macrophage에서 세포증식 및 면역유도 cytokine 분비활성을 나타내었다. RWW를 1, 10, 100  $\mu$ g/mL 농도로 macrophage에 처리하여 면역자극을 유도한 결과 모든 처리 농도에서 IL-6, IL-12, TNF- $\alpha$ 의 분비가 증가되었다. 이상의 결과를 종합해 볼 때, 막걸리 유래 다당체는 자연면역계를 구성하고 있는 보체계와 macrophage의 활성인자로 작용할 수 있음이 확인되었고, RWW를 통해 cytokine 분비를 유도, 조절함으로써 체내 면역기능을 증강시킬 가능성이 있을 것으로 사료되었다.

### REFERENCES

1. Cho HK, Lee JY, Seo WT, Kim MK, Cho KM. 2012. Quality characteristics and antioxidant effects during *mak-*

- geolli* fermentation by purple sweet potato-rice *nuruk*. *Korean J Food Sci Technol* 44(4): 728-735.
2. Lee SJ, Shin WC. 2011. Physiological functionalities of Makgeolli (Korean Paradox). *Food Sci Ind* 44: 2-11.
  3. Kim JY, Sung KW, Bae HW, Yi YH. 2007. pH, acidity, color, reducing sugar, total sugar, alcohol and organoleptic characteristics of puffed rice powder added *takju* during fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 39: 266-271.
  4. Shin MO, Kang DY, Kim MH, Bae SJ. 2008. Effect of growth inhibition and quinone reductase activity stimulation of *Makgeoly* fractions in various cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 288-293.
  5. Lee SJ, Kim GW. 2010. Hypolipidemic effect of hexane fraction from *Rhizopus oryzae* KSD-815 through peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$ . *J Korean Soc Appl Biol Chem* 53: 761-765.
  6. Lee SJ, Kim JH, Jung YW, Park S, Shin WC, Park CS, Hong S, Kim GW. 2011. Compositions of organic acids and physiological functionality of commercial *makgeolli*. *Korean J Food Sci Technol* 43: 206-212.
  7. Shin MO, Kim MH, Bae SJ. 2010. The effect of *Makgeolli* on blood flow, serum lipid improvement and inhibition of ACE *in vitro*. *J Life Sci* 20: 710-716.
  8. Park SY, Lee J, Yu KW, Han NS, Lee H, Koh JH, Shin KS. 2006. Anti-complementary polysaccharides in grape wines. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 1232-1236.
  9. Hwang YC, Shin KS. 2008. Characterization of immunostimulating polysaccharides isolated from Korean persimmon vinegar. *Korean J Food Sci Technol* 40: 220-227.
  10. Park HR, Lee MS, Jo SY, Won HJ, Lee HS, Lee H, Shin KS. 2012. Immuno-stimulating activities of polysaccharides isolated from commercial soy sauce and traditional Korean soy sauce. *Korean J Food Sci Technol* 44: 228-234.
  11. Kim MK, Jung EY, Lee HS, Shin KS, Kim YK, Ra KS, Park CS, Woo MJ, Lee SH, Kim JS, Suh HJ. 2009. Isolation of strain for the preparation of the fermented antler and its physiological activities. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1237-1242.
  12. Bae SH, Jung EY, Kim SY, Shin KS, Suh HJ. 2010. Antioxidant and immuno-modulating activities of Korean traditional rice wine, *takju*. *J Food Biochem* 34: 233-248.
  13. Bae SH, Choi JW, Ra KS, Yu KW, Shin KS, Park SS, Suh HJ. 2012. Anti-complementary activity of enzyme-treated traditional Korean rice wine (Makgeolli) hydrolysates. *J Sci Food Agric* 92: 1765-1770.
  14. Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal Chem* 28: 350-356.
  15. Bitter T, Muir HM. 1962. A modified uronic acid carbazole reaction. *Anal Biochem* 4: 330-334.
  16. Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 248-254.
  17. Kabat EA, Mayer MM. 1965. *Experimental immunochemistry*. 2nd ed. Thomas Publisher, Springfield, IL, USA. p 133-240.
  18. Holers VM. 2003. The complement system as a therapeutic target in autoimmunity. *Clin Immunol* 107: 140-151.
  19. Satio H, Tomioka H, Sato K. 1988. PSK, a polysaccharide from *Coriolus versicolor*, enhances oxygen metabolism of murine peritoneal macrophages and the host resistance to listerial infection. *J Gen Microbiol* 134: 1029-1035.
  20. Lee SJ, Rim HK, Jung JY, An HJ, Shin JS, Cho CW, Rhee YK, Hong HD, Lee KT. 2013. Immunostimulatory activity of polysaccharides from *Cheonggukjang*. *Food Chem Toxicol* 59: 476-484.
  21. Birk RW, Gratchev A, Hakiy N, Politz O, Schledzewski K, Guillot P, Orfanos CE, Goerd S. 2001. Alternative activation of antigen-presenting cells: concepts and clinical relevance. *Hautarzt* 52: 193-200.
  22. Wang H, Actor JK, Indrigo J, Olsen M, Dasgupta A. 2003. Asian and Siberian ginseng as a potential modulator of immune function: an *in vitro* cytokine study using mouse macrophage. *Clin Chim Acta* 327: 123-128.
  23. Ohta Y, Lee JB, Hayashi K, Fujita A, Park DK, Hayashi T. 2007. *In vivo* anti-influenza virus activity of an immunomodulatory acidic polysaccharide isolated from *Cordyceps militaris* grown on germinated soybeans. *J Agric Food Chem* 55: 10194-10199.
  24. Sundquist M, Johansson C, Wick MJ. 2003. Dendritic cells as inducers of antimicrobial immunity *in vivo*. *Apmis* 111: 715-724.
  25. Jeong HJ, Chung HS, An HJ, Seo SW, Kim TG, Won JH, Shin JY, Ahn KS, Kim HM. 2004. The immune-enhancing effect of the herbal combination bouum-myunyuk-dan. *Biol Pharm Bull* 27: 29-33.
  26. Yoon TJ, Yu KW, Shin KS, Suh HJ. 2008. Innate immune stimulation of exo-polymers prepared from *Cordyceps sinensis* by submerged culture. *Appl Microbiol Biotechnol* 80: 1087-1093.