

Immune-modulation Effect of *Ulmus macrocarpa* Hance Water Extract on Balb/c Mice

Inhwan Lee^{1,7}, Da Hye Kwon², Sun Hee Lee⁷, Sung Do Lee¹, Deok Won Kim^{1,7}, Jong-Hwan Lee^{3,7}, Sook Kyung Hyun^{2,7}, Kyung-Hwa Kang^{4,7}, CheolMin Kim⁶, Byoung Woo Kim^{5,7}, Hye Jin Hwang^{2,7} and Kyung Tae Chung^{1,7*}

¹Department of Clinical Laboratory Science, Dong-Eui University, Busan 614-714, Korea

²Department of Food and Nutrition, Dong-Eui University, Busan 614-714, Korea

³Department of Biotechnology and Bioengineering, Dong-Eui University, Busan 614-714, Korea

⁴Department of Korean Physiology, Dong-Eui University, Busan 614-714, Korea

⁵Department of Applied Life Science, Dong-Eui University, Busan 614-714, Korea

⁶School of Medicine, Pusan National University, Busan 626-870, Korea

⁷Research Center for Anti-aging Technology Development, Dong-Eui University, Busan 614-714, Korea

Received October 14, 2014 / Revised October 16, 2014 / Accepted October 17, 2014

Traditional medicinal plants are widely used to treat many diseases, such as inflammation, infections, and even cancer. *Ulmus macrocarpa* Hance, a Chinese elm species, is distributed in Korea, China, and Japan. The stem bark is widely employed in Korean traditional medicine to treat dermatitis, mastitis, and edema. The aim of this study was to investigate whether water extract of *U. macrocarpa* Hance bark (*Ulmus cortex*) has an immune-modulating function in a mouse model. Three different concentrations (30 mg/kg, 100 mg/kg, and 300 mg/kg) of *Ulmus cortex* water extract (UCWE) were orally administered to mice for 14 days, and their immune responses were analyzed. Cytokines, such as interleukin (IL)-2, IL-12, and IFN- γ , increased in the blood of UCWE-fed groups when compared with a control group. In contrast, the IL-4 level did not change in any of the UCWE-fed groups. Cell-mediated cytotoxicity was also assayed using lymphokine-activated killer cells (LAK). LAK showed greater cytotoxicity in the UCWE-fed groups than LAK in the control group. Internal organ indices, such as liver, kidney, spleen, and thymus, were similar in all the groups, including the control group, indicating that UCWE may have been nontoxic in the experimental animals. These data suggest that UCWE has an immune-modulating function in a mouse model.

Key words : Cytokines, immune-modulation, LAK (lymphokine-activated killer) cells, *Ulmus macrocarpa* Hance

서론

오래 전부터 우리나라를 비롯한 여러 나라에서 건강 유지와 질병을 치료하는데 식물을 사용하여 왔다. 약리적인 기능을 가진 것으로 알려진 식물을 약용식물이라 하며 우리나라에는 약 700 여종이 자생되거나 재배되고 있다. 천연 약물의 중요한 공급원인 약용식물은 이차대사물질로 규정되는 다양한 화합물을 함유하고 있으며, 이들 화합물로는 글루칸, 다당체, flavonoids, isoflavonoids, saponins, alkaloids, sesquiterpenes, tannins, indoles 등이 포함된다[3]. 약물 개발을 위한 chemical

library 제조에 약용식물 유래 화합물이 사용되었으며, 이로부터 지난 25 년간 천연물과 천연물 유도체 약물이 다수 개발되었다[2]. 또한, 이런 추세에 맞추어 미국은 National Center for Complementary and Alternative Medicines (NCCAM)을 운영하고 있으며, 임상실험을 통해 천연물 약물을 개발하고 있다[12].

면역반응은 다양한 면역 세포들이 상호작용을 하며 외부로부터 침입한 병원체 및 물질에 대해 방어작용을 하는 것이다. 병원체로부터 건강을 유지하기 위해서 면역 기능의 강화가 요구되며 최근 연구 결과는 식물 유래 천연물이 면역기능을 증강하는 것으로 보고 되고 있다[14]. 면역기능 증강으로는 cytokine 생산 증가, 백신의 adjuvant 기능, 대식세포 활성 증가, 면역세포의 생육 증가, 면역세포의 세포독성능 증가와 같이 여러 가지 면역 기능 증강 연구가 보고 되어 있다.

왕느릅나무는 국내 전역에 자생하고 있으며, 줄기와 뿌리의 껍질을 유백피라 하고 약재로서 오래 동안 사용되어 왔다. 전통적으로 부종, 유방염, 위염, 암 등에 사용되었으며[5], 최근에

*Corresponding author

Tel : +82-51-890-2681, Fax : +82-51-890-2622

E-mail : kchung@deu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

는 항산화, 항염증, 면역조절 기능이 있는 것으로 보고 되었다 [8]. 또한, 유백피에서 (-)-catechin, catechin glycosides, triterpenes, lignan, neolignan glycosides 성분 등이 분리 되었으며, 이 화합물에 의해 항염증[23], topoisomerase 억제 기능이 나타나는 것으로 알려져 있다[9, 22]. 본 연구는 왕느릅나무 추출물이 면역 기능에 어떤 영향을 끼치는지 *in vivo* 마우스 모델을 이용하여 조사하였으며, 주요한 cytokine 농도 증가와 면역세포의 세포독성 기능 향상 결과를 얻어 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료의 추출

유백피 원재료는 Dae-Han herbal medicine Inc. (Busan, Korea)에서 공급 받아 사용하였다. 유백피를 물을 사용하여 95°C에서 6시간 추출한 후, 200 mesh를 통해 여과하였다. 여과된 추출액은 48시간 동안 동결 건조하여 유백피 열수 추출 (*Ulmus cortex water extract*, UCWE) 분말을 획득하였다. 7 kg의 원재료를 이용해 최종적으로 9.48%의 수율을 얻었고, 이를 제습제가 함유된 desiccator에 넣어 냉장보관하고, 실험 직전에 멸균수를 이용해 녹여서 0.2 µm filter로 여과 멸균한 후 농도 별 희석하여 사용하였다.

시약

본 실험에 사용된 시약 RPMI 1640 medium (Hyclone, Logan, US), Fetal bovine serum (Gibco, Rockville, US), Pen Strep (10,000 unit/ml penicillin, 10,000 µg/ml streptomycin, Gibco, Rockville, US)은 각 제조사로부터 구입하였고, mouse cytokine ELISA kit은 Biolegend (San Diego, US)에서 구입하였다. CytoTox 96 Non-radioactive cytotoxicity assay kit은 Promega Korea (Seoul, Korea)에서 구입하였다.

실험동물

(주)SAMTAKO에서 12 주령의 BALB/c 특정 병원체 부재 inbred male mice를 분양 받아 마우스 전용 사료와 식수를 자유롭게 공급하면서 동물 사육실에서 7일간 적응시킨 후, 체중 23±2 g의 마우스를 실험에 사용하였다. 실험동물 사육실의 온도는 24°C±1, 습도는 55±5%, 자연광과 인공조명을 동반한 명암교대는 12시간씩을 유지하였다. 실험동물 사육관리는 "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" 기준으로 하였으며, 동의대학교 동물윤리심사위원회(DEU-R2013-002) 심의를 준수하였다.

실험동물의 식이 및 체중 측정

실험군은 정상대조군(Normal control, NC), UCWE 식이농도 30 mg/kg, 100 mg/kg, 300 mg/kg의 3개 군으로 나누었으

며 각 군별 개체 수는 8 마리로 하였다. 식이 직전 각 실험군의 평균 체중을 토대로 각 식이 농도가 되게 멸균수에 녹인 UCWE을 200 µl 용량으로 경구 투여하였다. NC군에는 동량의 멸균수가 식이 되었고, 총 식이 기간은 14일 이었다.

장기무게 측정 및 장기 지수(Organ index) 산정

에테르를 이용해 마취한 마우스를 희생하여 체중 측정 후 간, 흉선, 신장, 비장을 적출하여 각 장기의 무게를 측정하였다. 실험 동물의 체중 차이에 의한 변이값을 최소화하고 이를 표준화하기 위해 적출한 장기무게와 마우스의 체중을 바탕으로 아래 공식을 이용해 장기 지수를 산정하였다[4].

$$\sqrt{\frac{\text{Organ weight} \times 100}{\text{Body weight}}}$$

비장세포 조제

희생한 마우스의 비장을 무균적으로 적출하여 RPMI 1640 배지 속에서 멸균된 stainless mesh (0.038 aperture, Sigma-Aldrich Korea)를 사용해 단일세포로 균일하게 부유시킨 후 원심분리 하였다[21]. 상등액을 제거하고 RBC lysis buffer (Biolegend)를 가하여 적혈구를 용혈시켰다[6]. 원심분리를 통해 적혈구 용혈층을 분리 제거하고 비장세포를 RPMI 1640 배지로 세척 후 10% fetal bovine serum이 첨가된 RPMI 1640 배지에 현탁하였다. 그 후 hemocytometer와 trypan blue exclusion method를 이용해 계수하였고 이를 희석해 lymphokine activated killer cells (LAK)의 세포독성 활성 실험에 사용하였다.

비장세포 지수 산정

상기의 방법을 통해 획득한 각 개체의 비장세포 수와 비장 무게를 토대로 아래 공식을 이용해 비장세포 지수를 산정하였다[11].

$$\text{Splenocyte index} = \frac{\text{Splenocyte number} \div 10^7}{\text{Spleen weight}}$$

혈청 내 Cytokine 변화 측정

마우스의 심장에서 채혈한 전혈을 15분간 방치시켜 응고시킨 후 각각의 혈액을 3,000 rpm으로 15분간 원심분리하여 상층의 혈청을 획득하고, LEGEND MAX™ ELISA Kit (Biolegend)를 이용하여 IL-2, IL-4, IL-12, IFN-γ 농도를 각각 측정하였다. 제조사의 protocol에 따라 capture antibody pre-coated 96 well micro plate에 wash buffer로 3회 세척한 후 50 µl의 assay buffer를 분주하고 각 cytokine 표준액 및 혈청을 50 µl 씩 첨가하여 200 rpm의 agitator에서 2시간 동안 실온 반응시켰다. Wash buffer를 이용해 3회 세척한 후 detection antibody를 100 µl 분주하고, 실온에서 1시간 동안 반

응시킨 후 avidin-HRP를 100 μ l 분주하여 다시 실온에서 30분간 반응시켰다. wash buffer로 4회 세척한 후 TMB substrate solution이 포함된 기질액 100 μ l를 분주하여 실온에서 15분 동안 차광하여 방치하고 stop solution 100 μ l를 처리하여 반응을 정지시키고 ELISA micro plate reader (Bio-Rad, Korea)로 450 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 각 cytokine의 농도는 표준액을 사용하여 얻은 표준곡선에 따라 계산하였다.

Lymphokine activated killer cells (LAK) 활성화 실험

LAK 활성화 실험은 CytoTox 96 Non-radioactive cytotoxicity assay kit (Promega)을 사용해 실시하였다. 5×10^6 cells/ml의 splenocyte에 500 ng/ml의 IL-2를 첨가 후 2일 동안 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 에서 배양하였으며(B), YAC-1 림프종 세포도 2일간 배양하여 준비하였다(C). 비장세포 5×10^5 개와 YAC-1 림프종 세포 5×10^4 개를 각각 50 μ l씩 round-bottom 96 well micro plate에 섞은 후(A), 1,500 rpm에서 5분간 원심분리 하여 2일간 배양하며 반응 시켰다. 반응 종료 전 target cell maximum LDH Release control이 있는 well에 10 \times lysis solution 10 μ l를 처리하고(D) 4시간 반응 후 원심하여 상등액 50 μ l를 flat-bottom 96 well micro plate로 옮겨주었다. 50 μ l의 reconstituted substrate mix 용액을 well마다 처리하여 상온에서 30분간 반응시킨 후, 각 well에 50 μ l의 stop solution을 넣어 1시간 동안

상온에서 반응을 시켰다. 반응 종료 후 microplate reader (Bio-rad)를 이용해 490 nm 파장에서 흡광도를 측정하였고 LAK의 세포독성 활성을 아래 공식을 사용하여 계산하였다.

$$\text{Cytotoxicity (\%)} = (A-B-C)/(D-C) \times 100$$

- A : Experimental value
- B : Effector spontaneous value
- C : Target spontaneous value
- D : Target Maximum value

통계분석

실험 결과에 대한 통계분석은 SPSS/Windows 21.0을 이용하여 분석하였고 모든 결과는 각 실험군의 평균 \pm 표준오차로 표기하였다. 각 실험군 간의 평균값의 차이는 일원배치 분산 분석(one-way ANOVA)과 다중 비교 Bonferroni 법[16]을 이용하여 유의수준 $p < 0.001$ 수준에서 분석하였다.

결과 및 고찰

장기의 무게 변화

실험동물을 UCWE 고, 중, 저농도의 식이군으로 나누어 각각 300 mg/kg, 100 mg/kg, 30 mg/kg으로 2주 동안 식이를 하였다. 식이 종료 후 간, 신장, 흉선, 비장의 장기 지수를 비교

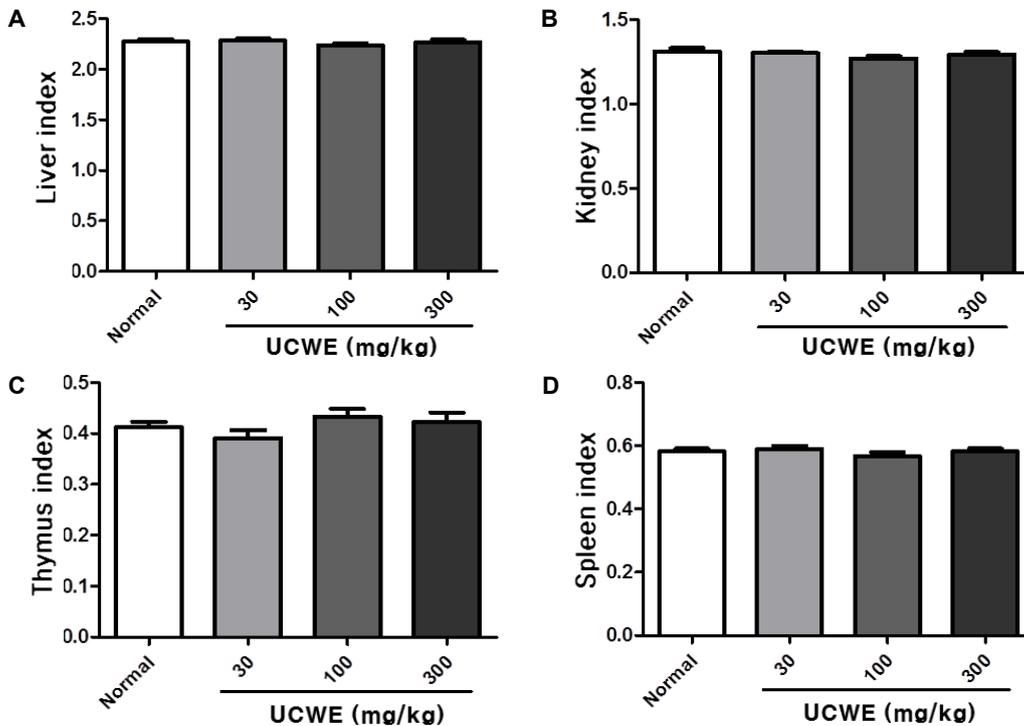


Fig. 1. The changes of organ indices in UCWE-treated BALB/c mice. Each index of liver (A), kidney (B), thymus (C) and spleen (D) of normal and UCWE-treated BALB/c mice were calculated as described in Materials and Methods. Data were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) and Bonferroni correction, following by IBM SPSS Statistics 21.0. Results were expressed as mean \pm standard deviation (SD) of eight mice per group. Values of $p < 0.001$ vs. normal control group.

해 보았을 때, NC군을 기준으로 각 실험군에서 유의성 있는 변화를 보이지 않았다(Fig. 1). 식이 농도를 300 mg/kg까지 다소 높게 정한 것은 UCWE에 의한 장기의 영향 여부를 검토하고자 하였다. 이 결과는 UCWE가 300 mg/kg 고농도에서도 간, 신장, 흉선, 비장에 대해서 외형적 영향은 없는 것으로 나타났다.

비장세포 지수의 변화

비장은 혈액을 여과할 뿐 아니라 이차 림프조직으로 작용하며 혈액 속 항원을 제거하고 B 세포와 T 세포를 활성화 시키는 중요한 장기이다. 또한 외부항원에 대한 적응면역반응이 시작되는 곳으로 B 세포와 T 세포가 혈액을 통해 순환하면서 지속적으로 비장으로 유입과 배출이 되고 있다. 따라서 비장세포 수의 변화는 림프구의 변화를 나타낸다고 볼 수 있다. UCWE 식이군과 멸균수만 식이한 NC군의 비장으로부터 유래한 비장세포 수를 index로 나타내었을 때 통계적으로 유의적 차이는 보이지 않았다(Fig. 2). 그러나, UCWE 식이군의 비장세포 수 index의 평균값이 NC군에 비해 다소 증가하는 경향을 나타내었으며, 300 mg/kg의 고농도 식이군에서는 52.4로 나타나 NC군 보다 약 10 증가하여 NC군 대비 약 23.5% 면역세포 수 증가로 산정되었다. 이는 UCWE 식이로 인해 비장에서 면역 세포 수의 증가 변화가 있었다고 생각 할 수 있다.

혈청 내 Cytokine 농도 변화

효과적인 면역반응을 수행하기 위해서는 면역 세포 간에 복합적인 상호작용이 필요하다. 세포와 세포 간에 커뮤니케이션을 매개하는 분자를 총칭하여 cytokine이라고 한다. 많은 cytokine이 interleukin (IL)이라고 불리는 이유는 백혈구(leukocytes) 사이에 작용하면서 면역반응에 관여하기 때문이다[13]. UCWE가 마우스의 면역반응 조절에 미치는 효과를

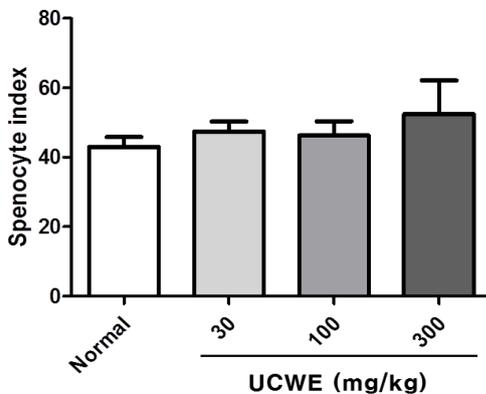


Fig. 2. The splenocyte index in normal and UCWE-treated BALB/c mice. The splenocyte indices of each group were calculated as described in Materials and Methods. Results were expressed as mean ± standard deviation (SD) of eight mice per group.

확인하기 위하여 식이된 마우스의 혈청에서 cytokine 중 IL-2, IL-4, IL-12 그리고 IFN- γ 의 농도 변화를 ELISA 방법으로 측정하였다. IL-2의 경우 NC군과 비교했을 때 식이군 모두에서 유의적인 변화값을 보였고, IL-12와 IFN- γ 의 경우 100 mg/kg, 300 mg/kg 식이군에서 유의적인 차이를 보였다. 그에 반해 IL-4의 변화는 나타나지 않았다. IL-2는 T 세포 중에 Th1과 Th2 세포의 분화를 촉진하는 cytokine으로 이 세포들의 집단 유지에 중요한 역할을 한다[10]. Th1과 Th2 세포는 각각 선천성 면역에 중요한 대식세포와 항체를 생산하는 B 세포의 증식을 촉진한다. 따라서, UCWE에 의해 IL-2의 농도가 증가하였다는 것은 결과적으로 UCWE가 대식세포와 B 세포에도 영향을 미쳐 면역반응 향상을 유도할 수 있다고 생각된다.

IL-12의 기능은 natural killer (NK) 세포와 CD8+ cytotoxic T 세포의 활성화와 성장에 영향을 주는 cytokine으로 선천성 및 획득면역 반응뿐만 아니라 암치료에도 중요한 것으로 알려져 있다[20]. IFN- γ 는 NK 세포와 CD4+와 CD8+ T 세포에서 생산되어 대식세포의 활성화를 돕는 선천성 면역에 중요한 cytokine이다[17]. UCWE 100 mg/kg, 300 mg/kg 식이군에서 IL-12와 IFN- γ 의 경우 유의적인 차이를 보였는데 NK세포, T 세포, 대식세포가 활성화 되는 영향을 받았을 것으로 유추된다. 반면에, IL-4의 농도변화는 나타나지 않았는데 IL-4는 naïve T 세포에서 Th2 세포의 분화를 촉진하며, 양성피드백(positive feedback) 작용으로 Th2 세포 분화를 더욱 촉진하며, B 세포의 IgE 생산을 유도하는 cytokine이다[24]. 따라서, UCWE는 IgE의 생산에는 영향을 미치지 않는 것으로 추정된다. 그 이유는 IL-12가 IL-4 생산을 억제하는 것으로 알려져 있는데[19], UCWE에 의해 생산된 IL-12가 이 기능을 하였다고 생각할 수 있다.

UCWE의 Lymphokine activated killer cells (LAK)에 미치는 영향

림포카인 활성화 살해 세포(lymphokine activated killer cells, LAK)는 림포카인에 반응하여 종양세포를 죽이는 기능이 있는 세포의 집단으로 알려져 있고, 특히 IL-2에 노출되면 NK 세포가 살해 할 수 없는 종양세포에도 영향을 주는 것으로 알려져 있다[7]. LAK는 혈액 내 단핵세포(mononuclear cells)에서 유래하는 것으로 알려져 있으며 T 세포와 NK 세포가 혼합되어 있는 것으로 알려져 있다[15, 18]. LAK는 주요조직복합체(major histocompatibility complex, MHC)에 제한적이지 않고 세포매개 면역인 세포독성을 나타낸다. UCWE가 마우스의 세포매개 면역에 미치는 영향을 알아보기 위해 각각 30, 100, 300 mg/kg의 농도로 식이한 마우스군 별로 비장세포를 준비하고 IL-2를 처리하여 LAK로 유도시켰다. 각 군별 LAK 세포독성 활성을 측정하였을 때 Fig. 4에서 나타난 것과 같이 UCWE 100, 300 mg/kg의 농도로 식이한 마우스의 비장세포에서 LAK의 세포독성 활성이 NC군에 비해 약 1.3배 증가되었음을

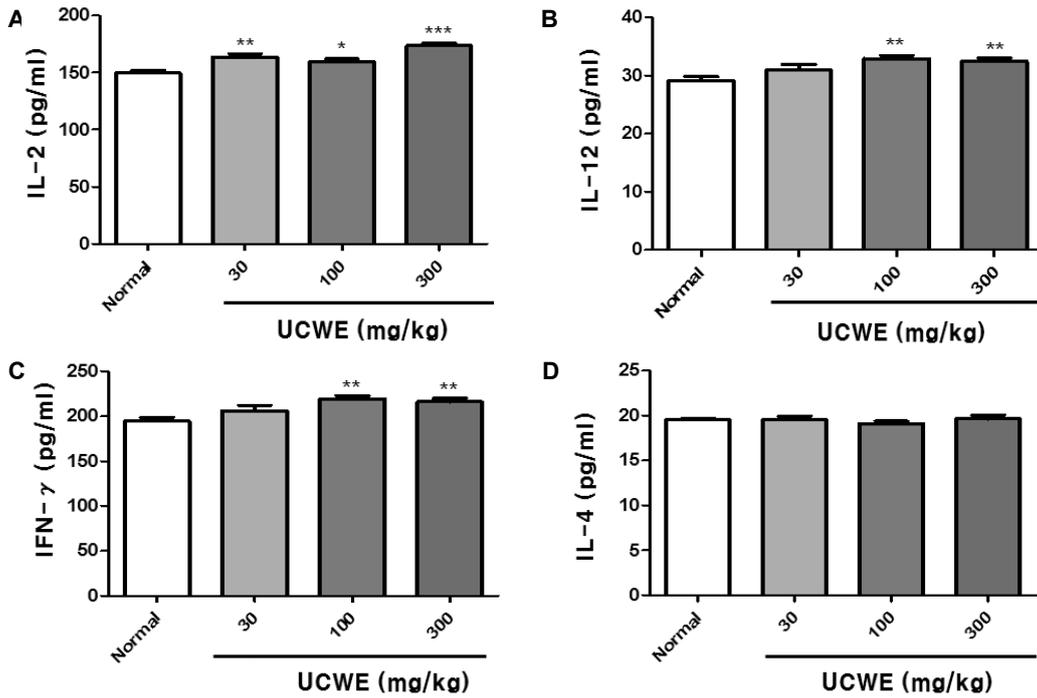


Fig. 3. The amount of cytokine levels in sera from normal and UCWE-treated BALB/c mice. Values of * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$ vs. normal control group.

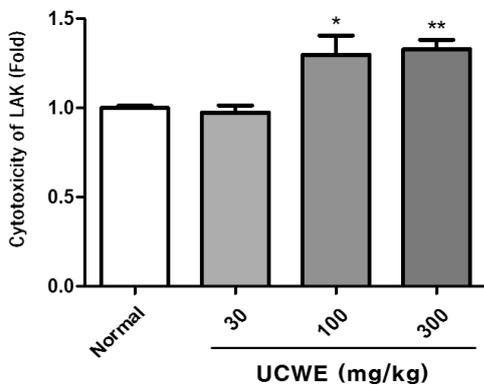


Fig. 4. Cytotoxicity by lymphokine activated killer cells of UCWE-treated mice. Splenocytes from each group were treated with IL-2 and the resulting cells, lymphokine-activated killer cells, were assayed for cytotoxicity. Values of * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ vs. normal control group.

확인하였다. 각 군별로 동일한 세포수를 사용하여 실시한 실험으로 *in vitro*에서 IL-2 자극 이전에 UCWE에 의해 이미 비장 세포가 LAK로 유도되는 자극을 받았다고 생각된다.

결론적으로 2주 동안 식이를 통해서 투여된 UCWE가 마우스에서 면역반응 증강에 작용하는 몇몇 cytokine의 농도 증가와 세포매개 세포독성을 향상시키는 기능을 나타내어 향후 면역증강 소재 개발에 가능성을 제공하였다고 생각된다. 이후 IgG와 같은 항체 생산에 주는 영향 검토와 유효성분 분석 자료를 획득한다면 UCWE에 의한 면역증강 메커니즘 연구에 더욱

도움이 될 것으로 생각된다.

감사의 글

이 연구는 산업통상자원부 및 한국산업기술진흥원의 산업 기술연구기반구축사업(항노화산업 지원을 위한 인프라구축 및 제품개발, N0000697) 일환으로 연구비 지원을 받아 수행되었음을 감사드립니다.

References

- Chahal, D. S., Sivamani, R. K., Isseroff, R. R. and Dasu, M. R. 2013. Plant-based modulation of Toll-like receptors: an emerging therapeutic model. *Phytother Res* **27**, 1423-1438.
- Chang, C. L., Chen, Y. C., Chen, H. M., Yang, N. S. and Yang, W. C. 2013. Natural cures for type 1 diabetes: a review of phytochemicals, biological actions, and clinical potential. *Curr Med Chem* **20**, 899-907.
- Chouhan, G., Islamuddin, M., Sahal, D. and Afrin, F. 2014. Exploring the role of medicinal plant-based immunomodulators for effective therapy of leishmaniasis. *Front Immunol* **5**, 193.
- Collins, F. M., Congdon, C. C. and Monrison, N. E. 1975. Growth of mycobacterium bovis (BCG) in T lymphocytedepleted mice. *Infect Immun* **11**, 57-64.
- Jun, C. D., Pae, H. O., Kim, Y. C., Jeong, S. J., Yoo, J. C., Lee, E. J., Choi, B. M., Chae, S. W., Park, R. K. and Chung, H. T. 1998. Inhibition of nitric oxide synthesis by butanol

- fraction of the methanol extract of *Ulmus davidiana* in murine macrophages. *J Ethnopharmacol* **62**, 129-135.
6. Kahlenberg, J. M., Thacker, S. G., Berthier, C. C., Cohen, C. D., Kretzler, M. and Kaplan, M. J. 2011. Inflammation activation of IL-18 results in endothelial progenitor cell dysfunction in systemic lupus erythematosus. *J Immunol* **187**, 6143-6156.
 7. Lafreniere, R. and Rosenberg, S. A. 1985. Successful immunotherapy of murine experimental hepatic metastases with lymphokine-activated killer cells and recombinant Interleukin 2. *Cancer Res* **45**, 3735-3741.
 8. Lee, E. H., Park, C. W. and Jung, Y. J. 2013. Anti-inflammatory and immune-modulating effect of *Ulmus davidiana* var. *japonica* Nakai extract on a macrophage cell line and immune cells in the mouse small intestine. *J Ethnopharmacol* **146**, 608-613.
 9. Lee, M. K., Sung, S. H., Lee, H. S., Cho, J. H., and Kim, Y. C. 2001. Lignan and neolignan glycosides from *Ulmus davidiana* var. *japonica*. *Arch Pharm Res* **24**, 198-201.
 10. Liao, W., Lin, J. X. and Leonard, W. J. 2011. IL-2 family cytokines: new insights into the complex roles of IL-2 as a broad regulator of T helper cell differentiation. *Curr Opin Immunol* **23**, 598-604.
 11. Leung, H. Y., Ma, C. W., Tang, Q. T. and Ko, K. M. 2011. Long-Term Treatment with a Compound Polysaccharide-Based Health Product (Infinitus Polysac Plus) Enhances Innate and Adaptive Immunity in Mice. *Chin Med* **2**, 178-185.
 12. Mainardi, T., Kapoor, S. and Bielory, L. 2009. Complementary and alternative medicine: herbs, phytochemicals and vitamins and their immunologic effects. *J Allergy Clin Immunol* **123**, 283-294.
 13. Owen, J. A., Punt, J., Stranford, S. A. and Jones, P. P. 2013. *Kuby Immunology*, pp105-140. 7th ed., W. H. Freeman and Company, New York, USA.
 14. Patwardhan, B. and Gautam, M. 2005. Botanical immunodrugs: scope and opportunities. *Drug Discov Today* **10**, 495-502.
 15. Phillips, J. H. and Lanier, L. L. 1986. Dissection of the lymphokine-activated killer phenomenon. Relative contribution of peripheral blood natural killer cells and T lymphocytes to cytotoxicity. *J Exp Med* **164**, 814-825.
 16. Strassburger, K. and Bretz, F. 2008. Compatible simultaneous lower confidence bounds for the Holm procedure and other Bonferroni-based closed tests. *Stat Med* **27**, 4914-4927.
 17. Schoenborn, J. R. and Wilson, C. B. 2007. Regulation of interferon-gamma during innate and adaptive immune responses. *Adv Immunol* **96**, 41-101.
 18. Takei, F. 2011. LAK cell therapy of AML: not to be lost in translation. *Exp Hematol* **39**, 1045-1046.
 19. Vignali, D. A. and Kuchroo, V. K. 2012. IL-12 family cytokines: immunological playmakers. *Nat Immunol* **13**, 722-728.
 20. Wolf, S. F., Sieburth, D. and Sypek, J. 1994. Interleukin 12: a key modulator of immune function. *Stem Cells* **12**, 154-168.
 21. Yang, S. X. and Li, X. Y. 1990. Enhancement of T lymphocyte proliferation and suppression of antibody producing cell formation by methionine-enkephalin. *Acta Pharmacologica Sinica* **11**, 355-359.
 22. Zheng, M. S., Lee, Y. K., Li, Y., Hwangbo, K., Lee, C. S., Kim, J. R., Lee, S. K., Chang, H. W. and Son, J. K. 2010. Inhibition of DNA topoisomerases I and II and cytotoxicity of compounds from *Ulmus davidiana* var. *japonica*. *Arch Pharm Res* **33**, 1307-1315.
 23. Zheng, M. S., Yang, J. H., Li, Y., Li, X., Chang, H. W. and Son, J. K. 2010. Anti-inflammatory activity of constituents isolated from *Ulmus davidiana* var. *japonica*. *Biomol Ther* **18**, 321-328.
 24. Zhu, J. and Paul, W. E. 2008. CD4 T cells: fates functions and faults. *Blood* **112**, 1557-1568.

초록 : 왕느릅나무 껍질 열수 추출물의 마우스에서의 *in vivo* 면역조절 효과

이인환^{1,7} · 권다혜² · 이선희⁷ · 이성도¹ · 김덕원^{1,7} · 이종현^{3,7} · 현숙경^{2,7} · 김철민⁶ · 김병우⁵ · 강경화^{4,7} · 황혜진^{2,7} · 정경태^{1,7*}

(¹동의대학교 임상병리학과, ²동의대학교 식품영양학과, ³동의대학교 생명공학과, ⁴동의대학교 한의학과, ⁵동의대학교 생명융합학과, ⁶부산대학교 의과대학, ⁷동의대학교 항노화산업 지원센터)

약용식물은 염증, 감염증, 암과 같은 질병에 광범위하게 사용되고 있으며, 전통적으로 오래 동안 사용되어 왔다. 왕느릅나무(*Ulmus macrocarpa* Hance)는 느릅나무의 한 종으로서 중국, 일본을 비롯해 한국 전역에 분포하고 있으며, 줄기와 뿌리의 껍질을 유백피라 하여 한의학에서 피부염, 유방염, 부종 등에 사용하여 왔다. 이 연구의 목적은 유백피의 열수 추출물(*Ulmus cortex water extract*, UCWE)이 면역조절 기능을 가지고 있는지를 조사하는 것이다. UCWE 식이농도 30 mg/kg, 100 mg/kg, 300 mg/kg의 3개 군으로 나누어 14일 동안 식이한 후 면역반응을 측정하였다. IL-2, IL-12, IFN- γ 의 혈중 농도가 UCWE를 식이한 군에서 유의적으로 증가하였으며, lymphokine activated killer cells (LAK)을 이용한 세포매개 세포독성 시험에서도 정상군에 비해 UCWE를 식이한 군에서 유의적으로 증가하였다. 그러나, 간, 신장, 비장, 흉선의 무게변화는 UCWE를 식이한 군과 정상군과의 차이가 없었다. 이는 300 mg/kg 고농도의 2주간 식이가 장기에 영향을 거의 미치지 않는다는 것을 암시한다고 생각된다. 따라서, UCWE는 내부 장기에는 영향을 주지 않으며 면역기능을 향상시키는 효과를 가진다고 여겨진다.