

고사리(*Pteridium aquilinum*) 및 취나물(*Aster scaber*)이 첨가된 된장의 면역증강 효과

- 연구노트 -

성낙윤* · 안은주* · 박원종 · 박우용 · 변의홍
공주대학교 식품공학과

Enhancing Effect of *Pteridium aquilinum* and *Aster scaber* Added Doenjang on Immunomodulatory Activity

Nak-Yun Sung*, Eun-Ju An*, Won-Jong Park, Woo-Young Park, and Eui-Hong Byun

Department of Food Science and Technology, Kongju National University

ABSTRACT This study demonstrated the immunological effects of methanol extracts from Doenjang added with wild plants (*Pteridium aquilinum* and *Aster scaber*) on bone-marrow derived macrophages and mouse splenocytes. Doenjang (DJ) and wild plant added Doenjang (WPDJ) extracts were treated to bone-marrow derived macrophages (BMDM) and splenocytes, and cell proliferation and cytokine production were measured. Cell proliferation of BMDM and splenocytes was more highly elevated in the WPDJ-treated group compared to the DJ-treated group. Cytokine [tumor necrosis factor (TNF)- α , interleukin (IL)-6, IL-1 β , IL-10, and IL-12] production in BMDM also significantly increased in the WPDJ-treated group. Similarly, in the case of cytokine production in splenocytes, WPDJ treatment highly increased production of Th 1 type cytokines [interferon (IFN)- γ and IL-2] but did not affect production of Th 2 type cytokines (IL-4). These results suggest that wild plants could improve the immunomodulatory activity of Doenjang and may be effective for the development Doenjang.

Key words: wild plant, immune enhancing activity, bone-marrow derived macrophage, splenocyte, cytokine

서 론

된장은 우리나라 전통 발효식품으로 한국인의 식생활에서 가장 애용되는 부식이자 조미료이며 한식을 만들기 위한 필수 식재료로 널리 사용되어 왔다. 된장은 콩이나 콩 가공식품을 이용하여 제조하는 것을 기본으로 하며, 탄수화물을 주성분으로 하는 우리 전통적인 식생활에서 주요한 단백질 공급원으로서 우리 음식에 맛과 영양을 공급하는 귀중한 발효식품으로 그 우수한 명맥을 이어오고 있다(1). 전통된장은 원료인 콩으로부터 유래하는 각종 영양성분을 제공하는 1차 기능과 맛과 풍미를 제공하는 2차 기능 이외에도 최근의 연구 보고들에 따르면 혈당 강하, 항산화 효과(2), 고혈압 방지 효과(3), 항돌연변이성, 항암성, 혈전 용해능 등 식품의 3차 기능인 각종 생리활성이 있는 것으로 알려지고 있다(4-7). 이렇듯 최근 식품 성분들이 소유한 기존의 영양학적 역할 외에 다양한 생리조절 작용을 밝히려는 노력이 여러 각도에서 이루어지면서, 생명 유지와 건강에 가장 기본적 작용을

하며 암을 비롯한 각종 질환의 발생과 밀접한 관련이 있는 생체 면역 조절 기능에도 관심을 끌고 있다.

최근 기존 전통된장의 기능성을 부각하기 위하여 전통된장에 지역 특산물이나 기능성 원료를 첨가하여 기능성이 더욱더 증가한 전통된장의 제조에 관한 연구들이 활발히 진행되고 있다. Jang 등(8)의 연구에 의하면 10% 인삼 농축액을 첨가하여 제조한 된장의 경우 항돌연변이 활성 및 항고혈압 활성이 증가한다고 보고하고 있으며, Jeong 등(9)의 연구에 의하면 구운 죽염을 이용하여 제조한 된장의 추출물에서 항산화 활성이 증가하였고 대장암 세포의 apoptosis를 증가시켜 주며, 염증 인자인 inducible nitric oxide synthases (iNOS), cyclooxygenase(COX)-2의 유전자 발현을 억제하여 항염증 활성이 증가하는 것으로 보고하고 있어 된장 제조 시 사용되는 부재료의 첨가와 된장 기능성과의 상관관계를 잘 나타내고 있다.

산채(山菜)는 인위적으로 논밭에서 재배되고 있는 채소에 반해 자연 그대로 산야에 자생하는 식물을 말한다. 산채의 영양적인 효능으로는 일반 야채류들보다 비타민이나 무기질이 다량 함유되어 있고(10), 면역 활성, 항돌연변이성(11), 암세포 독성(12), 간 기능 개선(13), 항산화(14), 항비만(15), 항당뇨(16), 항균(17), 항염(18) 등 약리적인 효능이 우수한 것으로 보고된다. 다양한 산채 중에서 고사리(*Pteridium*

Received 23 October 2015; Accepted 30 November 2015

Corresponding author: Eui-Hong Byun, Department of Food Science and Technology, Kongju National University, Yesan, Chungnam 32439, Korea

E-mail: ehbyun80@kongju.ac.kr, Phone: +82-41-330-1481

*These authors contributed equally to this work.

aquilinum)는 무기질을 다량 함유하는 우리나라의 대표적인 고영양 식물로 어린순을 삶아서 말린 상태를 나물로 주로 식용하고, 뿌리는 해열, 이설, 설사, 황달, 대하증 치료제로 사용됐으며, 최근 연구에 의하면 고사리의 다양한 생리활성 성분 중 고사리 다당류들은 인체 보체계 및 대식세포의 활성화에 크게 기여하는 것으로 보고하고 있다(19,20). 또한 취나물(*Aster scaber*)의 경우 풍부한 향미 성분으로 인하여 음식의 이취를 잡아주고 풍미를 개선하는 것으로 널리 알려졌다. 취나물에 다량 함유된 triterpene glycosides, volatile compounds 및 quinic acid류 등은 항산화 활성 및 뇌 신경세포의 분화 및 생존과 밀접한 관련이 있는 것으로 보고되고 있다(21). 이렇듯 산채의 맛과 영양 그리고 생리활성은 급변하는 소비자의 요구를 충족할 수 있으므로 여러 가지 산채를 이용한 기능성 탐색 및 식품개발이 활발히 진행되고 있다.

따라서 본 연구에서는 풍부한 영양성분, 다양한 생리활성 및 이취 개선에 효과가 뛰어난 고사리 및 취나물과 같은 산채의 첨가에 따른 된장의 기능성 변화에 관하여 알아보기 위하여 고사리와 취나물을 넣어 제조한 된장으로부터 추출한 된장 추출물이 면역 활성화에 미치는 영향에 관하여 관찰하였다.

재료 및 방법

추출물의 제조

본 연구에서 사용한 고사리 및 취나물 첨가 된장과 일반 된장은 향토발효음식연구소(Chungnam, Korea)에서 제공 받았다. 동결 건조된 산채 된장 및 일반 된장을 실험실용 분쇄기(NSG-1002SS, Hanil, Seoul, Korea)로 분쇄한 후 각각의 분말 50 mg에 400 mL의 95% 메탄올을 가하여 24 시간 교반한 다음 2회 추출하였다. 추출물을 filter paper (No.4, Whatman, Kent, UK)로 여과 후 회전식 진공농축기(EYELA, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 농축하고, 이를 동결 건조하여 본 실험에 사용하였다.

골수세포로부터 대식세포로의 분화 유도

골수세포로부터 대식세포로의 분화 방법은 Kim 등(22)의 방법을 이용하였으며, C57BL/6 마우스로부터 골수 채취용 주사기(BD Biosciences, San Diego, CA, USA)를 이용해 대퇴부 골수를 채취하였다. 채취한 골수를 차가운 phosphate buffered saline(PBS; Invitrogen Co., Carlsbad, CA, USA)으로 3회 세척한 후 적혈구를 제거하기 위하여 red blood cell(RBC) lysis buffer(Invitrogen Co.)를 5 mL 처리하여 10분간 방치하였다. PBS로 3번 세척하여 적혈구 찌꺼기를 완전히 제거하였다. 대식세포로의 분화를 유도하기 위해 10% fetal bovine serum(FBS)이 포함된 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM)에 2 mM L-glutamine, 100 unit/mL penicillin/streptomycin, 50 μ M mer-

captoethanol, 0.1 mM nonessential amino acid, 1 mM sodium pyruvate, 25 ng/mL macrophage colony stimulating factor(MC-SF, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)를 첨가하여 4일 동안 배양하였다.

대식세포 생존율 평가

산채첨가 된장 추출물의 대식세포 생존율은 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide; thiazolyl blue tetrazolium bromide(MTT; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 방법(23)을 이용하여 측정하였다. 마우스 골수세포로부터 분화된 대식세포를 96-well plates에 3×10^4 cells/well의 농도로 분주한 후 37°C, 5% CO₂ incubator에서 12시간 동안 배양하면서 세포를 완전히 부착시키고 산채 된장 메탄올 추출물(WPDJ) 및 일반 된장 메탄올 추출물(DJ)을 PBS(WelGene, Daegu, Korea)에 용해하여 125, 250 및 500 μ g/mL의 농도로 24시간 동안 처리하였다. Well당 30 μ L MTT 용액(5 mg/mL)을 첨가하여 4시간 동안 반응시켰다. MTT 시약의 첨가로 생긴 formazan을 녹이기 위해서 dimethyl sulfoxide(DMSO, Sigma-Aldrich)를 100 μ L씩 첨가하고 1시간 후 microplate reader를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며, Control(medium only)의 흡광도 값을 기준으로 세포 생존율을 측정하였다.

사이토카인 분비 유도능 평가

48-well plates에 마우스 골수세포로부터 분화된 대식세포를 5×10^4 cells/well로 분주한 후 37°C, 5% CO₂ incubator에서 12시간 동안 배양하면서 세포를 완전히 부착 시키며, PBS에 용해된 WPDJ(125, 250 및 500 μ g/mL) 또는 양성대조구인 lipopolysaccharide(LPS; 200 ng/mL) 및 DJ(125, 250 및 500 μ g/mL)를 처리한 후 24시간 동안 배양하고 배양 상등액을 분리하였다. 분리된 배양 상등액에서 IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-12p70 및 IL-10의 함량을 측정하였다. 사이토카인 함량은 ELISA kit(eBioscience Co., San Diego, CA, USA)을 사용하여 측정하였으며, 이때 사이토카인의 농도는 kit에 포함된 표준 용액에서 산출된 표준 곡선으로부터 계산되었다.

마우스로부터 비장세포 분리

본 연구에 사용된 실험동물은 한국원자력연구원 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 진행하였다(KAERI-IACUC-2015-032). 1주간의 순화를 마친 마우스를 경주 탈골법으로 희생시킨 후 비장을 무균적으로 적출하여 10%의 FBS와 항생제 penicillin(100 unit/mL), streptomycin(100 μ g/mL)을 함유한 Roswell Park Memorial Institute(RPMI)-1640 배지로 세척한 후 tissue grinder(Corning Costar, Corning, NY, USA)로 균질화하여 비장세포를 유리시켰다. 세포 현탁액에 적혈구를 제거하기 위하여 RBC lysis buffer

(BD Biosciences)를 첨가하여 적혈구를 제거하였고 혈구 계수기를 이용하여 세포 수를 측정하였다.

비장세포의 세포증식능 평가

산채 된장 추출물의 처리가 마우스로부터 분리한 비장세포의 증식능에 미치는 영향에 관하여 알아보기 위하여 96-well plates에 well당 1×10^6 개의 비장세포를 분주한 후 PBS에 용해된 WPDJ 및 DJ를 125, 250 및 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 처리하였고, 양성대조구인 Concanabalin A(Con A; Sigma-Aldrich)를 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 처리하였다. 24시간 동안 배양한 후 세포 생존율을 평가하기 위하여 WST-1[®] (Daeil Lap Science, Seoul, Korea) 용액을 각각의 well에 10 μL 씩 첨가하고 2시간 동안 반응시킨 후 450 nm에서 흡광도를 측정하여 세포증식능을 평가하였다.

비장세포의 대한 사이토카인 분비능 평가

산채 된장 추출물의 처리가 마우스로부터 분리한 비장세포의 사이토카인 분비능에 미치는 영향에 관하여 알아보기 위하여 비장 조직으로부터 분리된 비장세포를 48-well plates에 well당 2×10^6 개씩 분주한 후 WPDJ 및 DJ를 125, 250 및 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 처리하였으며, 양성대조구인 Con A(Sigma-Aldrich)를 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 처리하여 24시간 동안 배양시키고 배양 상등액에 존재하는 사이토카인(IL-2, 4 및 IFN- γ)의 함량에 관하여 측정하였다. 사이토카인의 측정은 ELISA kit(eBioscience)을 사용하여 측정하였다.

통계 분석

이상의 실험에서 얻어진 결과는 Statistical Package for Social Sciences(SPSS, 10.0, IBM, Chicago, IL, USA)를 이용하여 one-way ANOVA test로 분석하였으며, 시료 간의 유의성은 Student's two tailed t-test로 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 및 *** $P < 0.001$ 수준에서 비교하였다.

결과 및 고찰

WPDJ의 처리가 대식세포 및 비장세포의 세포증식능에 미치는 영향

외부의 병원체가 인체 내부로 침입하게 되면 면역세포들은 이를 탐지하고 제거하기 위하여 자기 자신을 활성화하여 외부침입 항원에 맞서 대응하게 된다. 인체 내부의 이러한 면역시스템은 크게 두 가지(선천면역계 및 적응면역계)로 나뉘는데 이중 선천면역은 자아를 인식하여 자신이 아닌 외부물질에 대하여 포식 작용을 일으킨다(24). 이러한 대표적인 면역세포로는 대식세포 및 수지상세포가 있는데, 이들은 초기면역 반응에 신속히 반응하여 외부항원을 탐식하고 확산을 억제하며 적응면역계에 항원에 대한 정보를 공유한다(25). 선천면역계로부터 정보를 전달받은 적응면역계에서는 면역 T 세포 및 B 세포를 활성화시켜 외부항원에 오염된 세포를 직접 죽이거나 외부항원에 대항하는 항체를 생산하게 되어 외부항원을 무력화시킨다(26). 본 연구에서도 이러한 면역세포들의 활성화와 관련하여 산채가 첨가된 된장 추출물이 선천면역계를 담당하는 대식세포와 적응면역계를 담당하는 비장세포에 미치는 영향을 평가하기 위하여 산채(고사리 및 취나물) 된장 추출물이 대식세포 및 비장세포의 세포증식능에 미치는 영향에 관하여 관찰하였다(Fig. 1).

일반 된장 추출물(DJ) 및 산채첨가 된장 추출물(WPDJ)을 농도별(125, 250 및 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$)로 처리하였으며, 대식세포에 대한 양성대조구로는 LPS를 200 ng/mL의 농도로 처리하였고 비장세포에 대한 양성대조구로는 Con A(2 $\mu\text{g}/\text{mL}$)를 처리하였다(Fig. 1). 된장 추출물의 처리가 면역세포의 증식률에 미치는 영향에 관하여 알아본 결과, 모든 된장 추출물 처리구에서 추출물의 농도가 증가할수록 대식세포 및 비장세포의 증식능이 증가하는 것으로 관찰되었다. 또한 일반 된장 추출물 처리구와 산채첨가 된장 추출물 처리구를 비교하여 볼 때, 산채첨가 된장 추출물 처리구에서 면역세포에 대한 증식률이 보다 크게 증가하는 것을 관찰할 수 있었

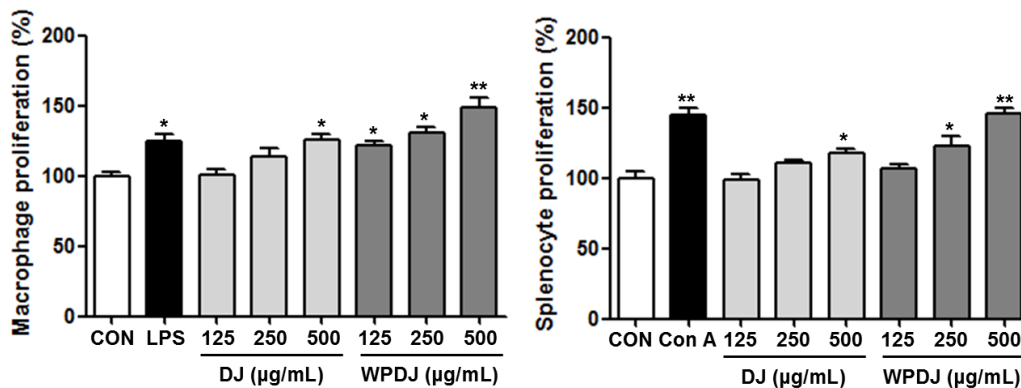


Fig. 1. Cell proliferation activity of Doenjang (DJ) and wild plants adding Doenjang (WPDJ) in bone-marrow derived macrophage and splenocyte. DJ and WPDJ were treated at the concentration of 125, 250, and 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$. After 24 h, cell proliferation was evaluated by MTT assay (bone-marrow derived macrophage) and WST assay (splenocyte). LPS (200 ng/mL) and Con A (2 $\mu\text{g}/\text{mL}$) were used as a positive control. Results are expressed as the mean \pm SD (n=3). Statistical analysis was performed using Student's two tails t-test with a significant level of * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$ compared to control (CON) group.

다(Fig. 1). 이러한 결과로 미루어 보아 산채를 첨가하여 제조한 된장은 대식세포와 비장세포의 세포 생존율을 증가시켜 줌으로써 면역 활성 증가에 크게 영향을 주는 것으로 생각된다.

WPDJ의 처리가 대식세포의 사이토카인 분비능에 미치는 영향

산채(고사리 및 취나물)첨가 된장 추출물의 처리가 대식세포의 사이토카인 분비능에 미치는 영향에 관하여 평가하기 위하여 마우스의 골수로부터 분화된 대식세포에 DJ 및 WPDJ를 농도별(125, 250 및 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$)로 처리한 후 세포배양 상등액에서 pro-inflammatory cytokine인 TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12p70 및 anti-inflammatory cytokine인 IL-10의 생성능에 대하여 알아보았다(Fig. 2). 사이토카인 분석 결과 일반 된장 및 산채첨가 된장 추출물 처리구 모두에서 면역 활성과 밀접한 관련을 가지는 pro-inflammatory cytokine이 증가하는 것을 관찰할 수 있었고, 또한 anti-inflammatory cytokine인 IL-10의 생성 증가에

는 영향을 주지 않는 것으로 관찰되었다(Fig. 2). 산채첨가에 따른 추출물별 활성을 비교하여 볼 때 산채첨가 된장 추출물 처리구가 일반 된장 처리구보다 pro-inflammatory cytokine의 증가가 더욱 두드러지게 나타나는 것으로 관찰되었다. 이러한 결과로 미루어 볼 때 산채첨가 된장 추출물의 처리가 면역 활성에 더 높게 기여하는 것으로 판단된다. 대식세포와 같은 탐식세포들의 활성이 증가하게 되면 부착성이 강해지며, 외부 바이러스나 세균에 오염된 세포를 직접 탐식하여 사멸시키거나 간접적으로 면역력을 활성화하는 사이토카인이라는 물질을 생산한다(27). 사이토카인은 면역세포 간의 상호협력을 중재하는 역할을 수행하며, 기타 외부에서 오는 여러 가지 자극에 대하여 한 개체의 세포와 조직들이 유기적으로 작용하도록 도와줄 뿐만 아니라 조절 작용, 면역반응, 일반적인 염증과정 등을 조절하는 것으로 보고된다(27). 대식세포가 생산하는 대표적인 사이토카인으로 TNF- α , IL-1 β , 6, 10 및 12 등이 있으며, 이들은 대식세포의 활성화를 판단하기 위한 지표로 주로 사용된다. 대식세포에서 분비되는 TNF- α 는 면역반응에 필요한 인자들의

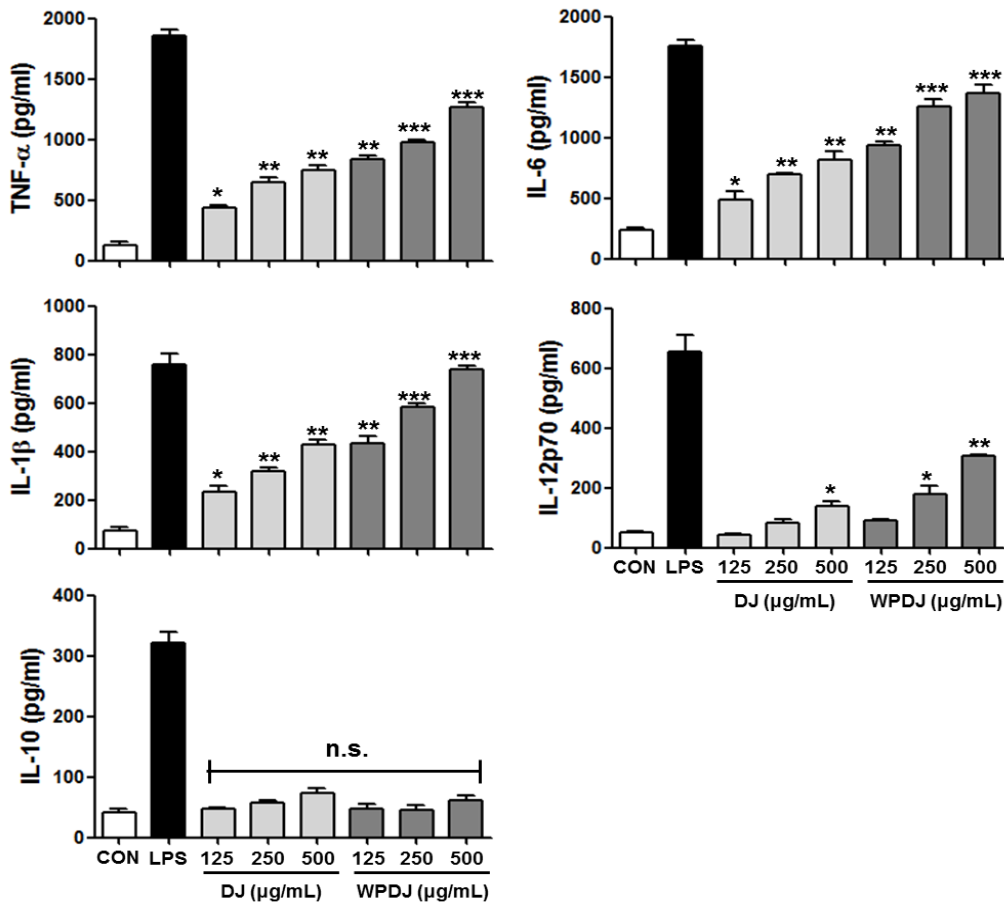


Fig. 2. Cytokine (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10, and IL-12p70) production activity of Doenjang (DJ) and wild plants adding Doenjang (WPDJ) in bone-marrow derived macrophage. DJ and WPDJ were treated at the concentration of 125, 250, and 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Lipopolysaccharide (LPS) was also treated at the concentration 200 ng/mL as a specific mitogen to macrophage cells. After 24 h, cytokine productions in culture supernatant were measured by using ELISA kit. Results are expressed as the mean \pm SD (n=3). Statistical analysis was performed using Student's two tails t-test with a significant level of * P <0.05, ** P <0.01, *** P <0.001 compared to control (CON) group. n.s. denoted no significance.

생성을 촉진하고, 특히 대식세포에 의해 주도되는 내재면역 반응에서 중요한 역할을 담당하게 된다(28). IL-1β는 TNF-α와 함께 대부분의 면역반응에 관여하는 사이토카인으로, 특히 T 세포, NK 세포, B 세포 활성화에 직접 관여하며 다양한 활성인자의 분비를 유도하여 세포증식과 세포 외 기질 축적을 자극한다(29). IL-6는 면역반응, 신경세포의 기능, 조혈 작용(hematopoiesis) 등에서 중요한 역할을 수행한다(26). IL-12는 선천면역계에서 바이러스 감염세포나 암세포를 직접 죽일 수 있는 natural killer(NK) 세포를 활성화하는 역할을 수행한다(27). 본 연구에서 산채(고사리 및 취나물)첨가 된장 추출물의 경우 대식세포의 활성화에 관계되는 사이토카인들을 증가시켰으며, 적응면역계에서 Th1 사이토카인의 생성을 억제하는 IL-10의 생성에는 영향을 주지 않았다. 따라서 산채첨가 된장은 대식세포의 생존율을 증가시킬 뿐만 아니라 대식세포의 활성화와 밀접한 관련이 있는 사이토카인의 분비능도 또한 증가시켜 주어 면역 활성에 크게 기여할 수 있을 것으로 생각한다.

WPDJ의 처리가 비장세포의 사이토카인 분비능에 미치는 영향

비장은 생체 내 면역 방어를 담당하는 이차 면역기관으로 주로 세포성 면역반응과 체액성 면역반응을 담당하는 면역 기관이다(30). 비장조직에는 T 세포, B 세포 및 대식세포와 같은 다양한 면역세포들이 밀집 분포되어 있어 면역 증진능을 평가하기 위한 수단으로 널리 이용되고 있으며, 특히 비장세포의 증식능과 사이토카인의 분비능에 관한 다양한 실

험들이 여러 가지 면역 활성 후보 물질을 대상으로 비장세포에서 이루어지고 있다(31).

본 연구에서도 산채(고사리 및 취나물)첨가 된장 추출물의 처리가 비장세포의 사이토카인 분비능에 미치는 영향에 관하여 평가하기 위하여 마우스의 비장조직으로부터 분리된 비장세포에 DJ 및 WPDJ를 농도별(125, 250 및 500 μg/mL)로 처리한 후 세포배양 상등액에서 IL-2, IFN-γ 및 IL-4의 분비능에 대하여 알아보았다(Fig. 3). 사이토카인 분석 결과 일반 된장 및 산채첨가 된장 추출물 처리구 모두에서 Th 1 type의 사이토카인인 IL-2와 IFN-γ의 분비능이 증가한 반면, Th 2 type의 사이토카인인 IL-4의 분비능에는 영향을 주지 않는 것으로 관찰되었다(Fig. 3). 산채첨가에 따른 된장 추출물의 비장세포 사이토카인 분비 활성을 비교하여 보면, 산채첨가 된장 추출물 처리구가 일반 된장 추출물 처리구보다 IL-2 및 IFN-γ의 분비를 촉진시켰다(Fig. 3). 이러한 결과로 미루어 볼 때 산채를 첨가하여 제조한 된장이 일반 된장보다 비장세포의 면역 활성을 더 높게 증가시키는 것으로 판단된다.

비장에 주로 분포하는 면역 T 세포는 사이토카인을 분비하여 면역능을 조절하게 되는데, 외부 항원에 대한 T 세포의 면역반응은 대식세포 및 수지상세포 등의 다양한 면역세포와의 상호작용으로 진행되며, 사이토카인은 이러한 상호작용을 중재하는 역할을 수행한다. 따라서 면역 T 세포의 사이토카인의 생성 및 분비는 면역조절에서 중요한 의미를 가지게 된다(31). 특히 면역 T 세포의 경우 분비하는 사이토카인의 종류에 따라 크게 Type 1(Th1)과 Type 2(Th2)로 분류

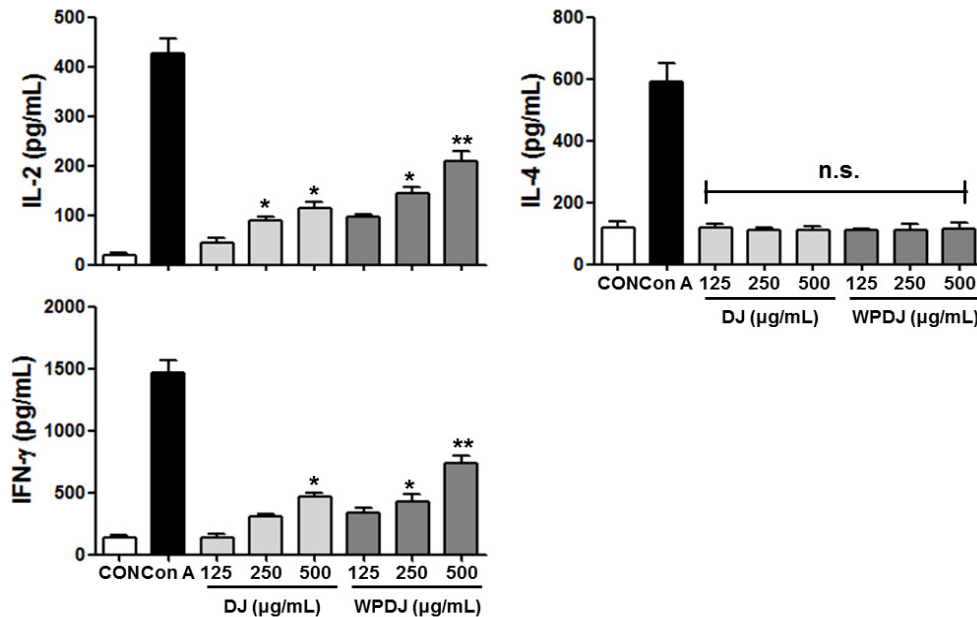


Fig. 3. Cytokine (IL-2, 4, and IFN-γ) production activity of Doenjang (DJ) and wild plants adding Doenjang (WPDJ) in splenocyte separated from mouse spleen. DJ and WPDJ were treated at the concentration of 125, 250, and 500 μg/mL. Concanavalin A (Con A) was also treated at the concentration of 2 μg/mL as a specific mitogen to splenic T cells. After 24 h, cytokine productions in culture supernatant were measured by using ELISA kit. Results are expressed as the mean±SD (n=3). Statistical analysis was performed using Student's two tails t-test with a significant level of *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, compared to control (CON) group. n.s. denoted no significance.

되는데, Th1 사이토카인(IFN- γ , IL-2, IL-12)은 주로 세포성 면역반응에 관여하거나 IgG를 만드는 B-세포에 작용하는 것으로 알려졌으며, Th2 사이토카인(IL-4, IL-5, IL-6, IL-10)은 IgE 등의 항체 생산에 관여하여 알레르기 반응을 유도하는 것으로 알려졌다(32). 따라서 본 연구에서도 산채(고사리 및 취나물)첨가 된장 추출물의 처리는 알레르기 유발과 관련된 Th2 type 사이토카인의 분비에는 영향을 주지 않으며, 세포성 면역반응을 유도하는 Th1 type의 사이토카인의 분비량을 증가시켜 면역 활성을 유도하는 것으로 생각한다.

요 약

본 연구는 고사리 및 취나물과 같은 산채가 첨가된 된장 및 일반 된장의 면역 활성을 비교하기 위하여 선천면역계의 대표적인 세포인 대식세포와 적응면역계에서 중추적인 역할을 수행하는 비장세포에 각각 산채첨가 된장 추출물(WPDJ) 및 일반 된장(DJ) 추출물을 처리하여 각각의 면역세포의 세포증식률과 사이토카인 분비능에 미치는 영향에 관하여 측정하여 보았다. 대식세포 및 비장세포에 WPDJ 및 DJ를 125, 250 및 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 처리하였을 때 두 추출물 모두 대식세포 및 비장세포에 대한 세포독성을 유발하지 않았으며, 농도 의존적으로 세포증식률을 증가시키는 것으로 관찰되었다. 대식세포의 사이토카인의 분비능에 관하여 알아본 결과 WPDJ 처리구에서 더 높게 증가하는 것으로 관찰되었다. 또한 마우스 비장에서 유리된 비장세포에 WPDJ 및 DJ를 125, 250 및 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 처리하였을 때 Th1 type의 사이토카인인 IL-2와 IFN- γ 의 분비능은 유의적으로 증가한 반면, 알레르기를 유도하는 것으로 알려진 Th2 type의 사이토카인인 IL-4의 생성에는 영향을 미치지 않는 것으로 관찰되었다. 따라서 산채를 첨가하여 제조한 된장은 일반 된장보다 면역 활성을 더 높게 증가시키는 것으로 생각한다.

감사의 글

본 연구는 2015년 공주대학교 학술연구의 연구비지원에 의하여 수행되었고, 또한 미래창조과학부에서 시행하는 방사선기술개발사업(NRF-2012M2A2A6011335)의 지원으로 수행되었습니다.

REFERENCES

- Kim MJ, Lee HS. 1990. Studies on the changes of taste compounds during soy paste fermentation (Ⅲ). *Korean J Soc Food Sci* 9: 261-265.
- Kurechi T, Kikugawa K, Fukuda S, Hasunuma M. 1981. Inhibition of N-nitrosamine formation by soya products. *Food Cosmet Toxicol* 19: 425-428.
- Yu R, Park SA, Chung DK, Nam HS, Shin ZI. 1996. Effect of soybean hydrolysate on hypertension in spontaneously hypertensive rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25: 1031-1036.
- Fang YZ, Yang S, Wu G. 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition* 18: 872-879.
- Park KY, Moon SH, Cheigh HS, Baik HS. 1996. Antimutagenic effects of Doenjang (Korean soy paste). *J Food Sci Nutr* 1: 151-156.
- Messina M. 1995. Modern applications for an ancient bean: soybeans and the prevention and treatment of chronic disease. *J Nutr* 125: 567S-569S.
- Lee JJ, Lee YM, Chang HC, Lee MY. 2009. Antioxidative effects of doenjang fermented using *Bacillus subtilis* DJ1. *Korean J Food Preserv* 16: 554-561.
- Jang SM, Lee JB, An H, Rhee CH, Park HD. 2000. Changes of microorganisms, enzyme activity and physiological functionality in the Korean soybean paste with various concentrations of ginseng extract during fermentation. *Korean J Postharvest Sci Technol* 7: 313-320.
- Jeong MW, Jeong JK, Kim SJ, Park KY. 2013. Fermentation characteristics and increased functionality of doenjang prepared with bamboo salt. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 1915-1923.
- Kim YD, Yang WM. 1986. Studies on the components of wild vegetables in Korea. *J Korean Soc Food Nutr* 15: 10-16.
- Ham SS, Lee SY, Choi M, Hwang Bo HJ. 1998. Antimutagenicity and cytotoxicity effects of *woorimil* wheat flour extracts added with wild herb and seaweed powder. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 1177-1182.
- Bae JH, Yu SO, Kim YM, Chon SU, Kim BW, Heo BG. 2009. Physiological activity of methanol extracts from *Ligularia fischeri* and their hyperplasia inhibition activity of cancer cell. *J Bio-Environ Control* 18: 67-73.
- Whang TE, Lim HO, Lee JW. 1999. Effect of fermented (*Oenanthe stolonifera* DC) extract on the activity of enzymes related to liver function of alcohol-administered rats and mice. *Korean J Med Crop Sci* 7: 107-114.
- Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS. 2005. Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung Island. *Korean J Food Sci Technol* 37: 233-240.
- Kim EY, Jung EY, Lim HS, Heo YR. 2007. The effects of the *Sasa borealis* leaves extract on plasma adiponectin, resistin, C-reactive protein and homocysteine levels in high fat diet-induced obese C57/BL6J mice. *Korean J Nutr* 40: 303-311.
- Choi J, Kim WB, Nam JH, Park HJ. 2007. Anti-diabetic effect of the methanolic extract of *Ligularia stenocephala* leaves in the streptozotocin-induced rat. *Korean J Plant Res* 20: 362-366.
- Moon YG, Choi KS, Lee KJ, Kim KY, Heo MS. 2006. Screening of antioxidative and antibacterial activity from hot water extracts of indigenous plants, Jeju-Island. *Korean J Biotechnol Bioeng* 21: 164-169.
- Koh YJ, Park YK, Kim YS, Cha DS, Choi HD. 2009. Preparation of hot water extracts of dandelion leaves to increase anti-inflammatory activity. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 391-395.
- Kweon MH, Kim HI, Sung HC, Yang HC. 1994. Core structure of the anti-complementary acidic polysaccharide (PA-IIa-1) isolated from water extract of *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum*. *Foods Biotechnol* 3: 137-143.
- Kweon MH, Sung HC. 1996. Structural comparison in the

- four anti-complementary polysaccharides isolated from *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum* (bracken). *Foods Biotechnol* 5: 136-141.
21. Hur JY, Soh Y, Kim BH, Suk K, Sohn NW, Kim HC, Kwon HC, Lee KR, Kim SY. 2001. Neuroprotective and neurotrophic effects of quinic acids from *Aster scaber* in PC12 cells. *Biol Pharm Bull* 24: 921-924.
 22. Kim K, Sohn H, Kim JS, Choi HG, Byun EH, Lee KI, Shin SJ, Song CH, Park JK, Kim HJ. 2012. *Mycobacterium tuberculosis* Rv0652 stimulates production of tumour necrosis factor and monocytes chemoattractant protein-1 in macrophages through the Toll-like receptor 4 pathway. *Immunology* 136: 231-240.
 23. Green LM, Reade JL, Ware CF. 1984. Rapid colorimetric assay for cell viability: Application to the quantitation of cytotoxic and growth inhibitory lymphokines. *J Immunol Methods* 70: 257-268.
 24. Hoebe K, Janssen E, Beutler B. 2004. The interface between innate and adaptive immunity. *Nat Immunol* 5: 971-974.
 25. Sunderkotter C, Steinbrink K, Goebeler M, Bhardwaj R, Sorg C. 1994. Macrophages and angiogenesis. *J Leukoc Biol* 55: 410-422.
 26. Morel F, Doussiere J, Vignais PV. 1991. The superoxide-generating oxidase of phagocytic cells. Physiological, molecular and pathological aspects. *Eur J Biochem* 201: 523-546.
 27. Ramesh HP, Yamaki K, Tsushida T. 2002. Effect of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) galactomannan fractions on phagocytosis in rat macrophages and on proliferation and IgM secretion in HB4C5 cells. *Carbohydr Polym* 50: 79-83.
 28. Yoon HJ, Moon ME, Park HS, Im SY, Lee JH, Kim YH. 2007. Effects of chitosan oligosaccharide on the *C. albicans*-induced inflammatory effect in mice and RAW 264.7 macrophage cells. *J Chitin Chitosan* 12: 15-20.
 29. Delgado AV, McManus AT, Chambers JP. 2003. Production of tumor necrosis factor- α , interleukin 1- β , interleukin 2, and interleukin 6 by rat leukocyte subpopulations after exposure to substance P. *Neuropeptides* 37: 355-361.
 30. Cyster JG. 1999. Chemokines and cell migration in secondary lymphoid organs. *Science* 286: 2098-2102.
 31. Zalys R, Zagon IS, Bonneau RH, Lang CM, McLaughlin PJ. 2000. In vivo effects of chronic treatment with [Met⁵]-enkephalin on hematological values and natural killer cell activity in athymic mice. *Life Sci* 66: 829-834.
 32. Medzhitov R. 2001. Toll-like receptors and innate immunity. *Nat Rev Immunol* 1: 135-145.