

## 단풍마 단백질 추출물의 스트레스로 인한 면역력 저하 개선 효과

김주환 · 이선미 · <sup>†</sup>이동철\*

성균관대학교 약학대학, \*충북도립대학 바이오생명의약과

### Immunopotentiating Effect of Protein Extract from *Dioscorea quinqueloba* in Stressed Mice

Ju Hwan Kim, Sun-Mee Lee and <sup>†</sup>Dong-Cheol Lee\*

School of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 16419, Korea

<sup>\*</sup>Dept. of Biotechnology and Biomedicine, Chungbuk Provincial College, Chungbuk 28160, Korea

#### Abstract

It is noted that *Dioscorea quinqueloba* is a medicinal herb that is widely used to treat cardiovascular disease and is assessed as useful to treat other various medical conditions. The immunopotentiating effects of the protein extract (DQP-1) from *Dioscorea quinqueloba* were thus formally investigated *in vivo* under incident of cold stress. In this case study, the spleen and thymus weight in mice was shown to have decreased after a measured exposure to cold stress, while the adrenal gland weight in the mice was shown to have increased. The systematic oral administration of DQP-1 significantly recovered the weight loss of the spleen and suppressed the adrenal gland hypertrophy during the association with cold stress. Additionally, the DQP-1 also restored the ascorbic acid level in the adrenal gland reduced after cold stress. The cold stress exposure lowered the percentage of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> cells in the mouse thymus as determined by the flow cytometric analysis, as well as the levels of some serum immunological cytokines(interleukin-2, interleukin-12, and interferon- $\gamma$ ) in the studied mice. The resulting identified weakened immunity caused by cold stress was also recovered by a treatment with DQP-1. The DQP-1 significantly suppressed the formation of serum enzymes of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, and lactate dehydrogenase, which were systematically elevated during the cold stress episode. These results indicate that DQP-1 can improve immunity in mice that are characteristically weakened under stress.

Key words: *Dioscorea quinqueloba*, immunopotentiation, stress, protein extract, immunity

#### 서론

인체의 면역 기능에 이상이 생기면 다양한 질환이 일어날 수 있다. 면역 기능이 떨어지면 외부 바이러스, 세균 등의 침입이나 암의 발생이 용이하게 되어 바이러스 질환, 세균성 질환 및 암 등이 발생하게 된다. 인체 면역 기능이 저하되는 요인으로는 노화, 스트레스, 수면 부족, 음주 및 흡연 등이 알려져 있다. 특히, 사람이 스트레스를 받으면 뇌는 시상하부를 자극하게 되고 내분비선을 통해 코르티솔과 같은 스트레스 호르몬이 분비되는데, 이 호르몬은 가슴샘을 위축시켜 T세포

나 B세포 등 림프구의 성숙을 방해하고, 말초 혈액 내 림프구를 파괴시키기도 한다(Herbert & Cohen 1993). 만성 스트레스는 자연살해(NK)세포의 활성을 저하시키고, 림프구의 증식과 항체 생성력을 감소시켜서 전체적인 면역력을 저하시키게 된다(Segerstrom & Miller 2004). 즉, 스트레스로 인하여 세균이나 바이러스에 의한 감염성 질환이 증가하고, 암 발생이 증가될 수 있다. 스트레스 등으로 인한 면역력 저하를 회복하는 방법으로는 적절한 영양 보충과 적당한 운동, 스트레스 조절, 그리고 충분한 수면 등이 있지만, 이러한 요건들을 충족 시키기에 현대인들은 너무 바쁘고 사회는 점점 치열해지고,

<sup>†</sup> Corresponding author: Dong-Cheol Lee, Dept. of Biotechnology and Biomedicine, Chungbuk Provincial College, Chungbuk 28160, Korea. Tel: +82-43-715-7301, Fax: +82-43-715-7306, E-mail: dclee@cpcu.ac.kr

있다. 이에 따라 면역 기능 향상에 도움을 줄 수 있는 기능성 원료들을 함유한 다양한 건강 기능 식품과 건강 보조 식품들이 개발되어 출시되고 있다. 본 연구는 특히 스트레스로 인한 면역력 저하를 개선하는 기능성 식품 원료에 대한 것이다.

본 연구의 주 재료인 단풍마(*Dioscorea quinqueloba*)는 마과(Dioscoreaceae)에 속하는 다년생 덩굴성 초본 식물로서, 우리나라 각지의 산기슭이나 개울가 또는 관목 숲 사이에서 자란다. 근연 식물로 우리나라에 자생하는 것들로는 마(*D. batatas*), 참마(*D. japonica*), 국화마(*D. septemloba*), 도꼬로마(*D. tokoro*) 등이 있다(Korea National Arboretum 2016). 한방에서는 단풍마의 뿌리줄기를 천산룡(穿山龍)이라는 약재로 쓰는데, 술에 담가서 복용하여 어혈 때문에 생긴 관상 동맥 장애에 사용하며, 기침과 천식을 가라앉히거나, 종기와 피부가 혈어 생긴 발진에 사용하고 있다(Jang JG 2009). 국내에서 단풍마의 뿌리 줄기는 농산물로서 생산되고 있으며, 시장이나 인터넷 쇼핑몰에서 쉽게 구매할 수가 있다. 그러나, 현재까지 단풍마의 성분 및 약리활성에 대한 과학적인 연구 자료는 거의 없는 실정이다. 한방 약초로 사용될 때 신장 독성의 부작용 가능성이 국내에서 보고된 바 있으며(Kim 등 2014), 몇 개의 국내 특허에서 항산화, 항염증 및 거담 활성을 갖는 단풍마 유기용매 추출물에 대한 보고가 있을 뿐이다(Kim 등 2007). 그러나, 마 속(*Dioscorea*) 다른 종 식물들의 생리활성에 대해서는 연구가 많이 진행되어 있어서, 뿌리 줄기 추출물이 혈중 콜레스테롤을 낮추고 혈압을 내리며, 관상혈관의 혈액순환을 좋게 하고, 기침을 멎게 하여 숨찬 증상을 없애는 작용 등이 보고되고 있다(Lu 등 2012).

위와 같이 마 속(*Dioscorea*)의 근연 식물들에 대한 연구는 많이 진행되어 있으나, 우리나라 자원으로서 분포도가 높은 단풍마(*Dioscorea quinqueloba*)에 대한 성분 및 생리 활성에 대한 보고는 거의 없는 실정이다. 본 연구자들은 단풍마의 수용성 단백질들을 분리 정제하여 효능에 대한 연구를 세포 실험 및 동물 실험으로 지속적으로 진행하여 왔으며, 단풍마(*Dioscorea quinqueloba*) 뿌리 줄기의 특정 단백질 추출물(이하 DQP-1)이 스트레스로 인한 면역력 저하를 개선하는 효능을 가지고 있음을 본 연구에서 밝히고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. DQP-1의 분리 정제

DQP-1의 분리정제 방법은 Gaidamashvili 등(2001)의 방법을 바탕으로 새로이 개발하였다. 실험에 사용된 Tris (Sigma-Aldrich, 미국) 수용액은 pH 8.0 이고, 0.05 M 농도로 사용하였다. 단풍마 뿌리 줄기 500 g의 껍질을 상당 부분 제거하고 세척한 후, 식용 믹서기에 넣고 분쇄하였다. 이 분쇄물에 Tris

수용액을 2.5 kg 첨가하고, 교반기에서 400 rpm으로 1시간 동안 교반해주었다. 이 혼합액을 여과지(Advantec 5B, 일본)에 통과시켜서 여과액을 수득하였고, 다시 이 여과액을 여과 필터(pore size 0.45  $\mu\text{m}$ )에 통과시켜서 여과액을 수득하였다. 이 여과액을 한외 여과(ultrafiltration) 필터(NMWL 30,000, Merck Millipore, 미국)와 수직흐름여과(tangential flow filtration) 장치(ProFlux M12, Merck Millipore, 미국)를 이용하여 투석여과(diafiltration)하여, 투석여과 희석비 기준으로 저분자 성분을 99% 이상 제거하였다. 이때 첨가하는 희석 용액으로는 Tris 수용액을 사용하였다. 이 수직흐름여과장치에서 최종적으로 500 mL 농축액을 얻었다. 이 농축액을 마이크로 여과 필터(pore size 0.45  $\mu\text{m}$ )에 통과시켜서 여과하였고, 이 여과액을 다음 음이온 크로마토그래피의 시료액으로 사용하였다. 100 mL 부피의 Q-Sepharose 음이온 교환 수지(GE Healthcare, 미국)로 충전된 유리 컬럼을 Tris 수용액으로 평형화시키고, 이 음이온 교환 컬럼에 상기에서 마련한 시료액을 흘려보내주었다. 그 다음, 이 음이온 교환 컬럼에 Tris 수용액을 200 mL 흘려보내주었고, 그 다음 0.15 M 농도의 NaCl이 함유된 Tris 수용액 100 mL를 흘려보내주었다. 최종적으로 0.30 M 농도의 NaCl이 함유된 Tris 수용액 100 mL를 상기의 음이온 교환 컬럼에 흘려보내주어 용출액 DQP-1액을 수득하였다. 마련된 용출액 DQP-1을 한외여과필터(NMWL 10,000)와 수직흐름여과장치를 이용하여 투석여과하여, 투석여과 희석비 기준으로 NaCl과 Tris 성분을 99% 이상 제거하였다. 이때 첨가하는 희석 용액으로는 증류수를 사용하였다. 이 수직흐름여과장치에서 최종적으로 수득한 농축액을 동결건조하여, 단풍마 단백질 추출물 DQP-1 분말을 수득하였다.

### 2. DQP-1의 성분 분석

BCA 단백질 분석 키트(BCA Protein Assay Kit, Thermo, 미국)를 이용하여 제조사에서 제공하는 실험법으로, 본 연구에서 분리 정제한 DQP-1 분말의 단백질 함량을 분석하였으며, SDS-PAGE(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis) 전기 영동 실험법으로 DQP-1을 구성하는 폴리펩티드들의 분자량을 확인하였다.

### 3. 실험 동물의 저온 스트레스 유도

본 연구의 실험동물들은 미국국립보건원의 실험동물관리 원칙(NIH publication no. 86-23, revised 1985)에 따라 관리를 받았고, 모든 동물 실험은 성균관대학교 동물실험윤리위원회의 승인(SKKUIACUC-20160010)을 받아 수행되었다. 22-24  $^{\circ}\text{C}$  온도로 유지되는 곳에서 12 h의 빛/어둠 주기로 사육된 29-31 g 체중의 8주령 수컷 ICR 생쥐들을 저온 스트레스 실험에 사용하였다. 실험 기간 동안 생쥐들은 표준사료와 물을

자유로이 섭취할 수 있도록 하였다. 생쥐들을 4 day 간 매일 일정 시간 동안 4°C 온도의 방에 두어서 저온 스트레스를 유발시켰다. 그 4 day 간 24 h 간격으로, 본 연구의 DQP-1 추출 물을 체중 당 투여량 별로(25, 50, 100 및 200 mg/kg) 생리식염수에 녹여 경구 투여하였다. 첫째 날에는 경구 투여 후에 4 h 동안, 둘째 날에는 경구 투여 후에 7 h 동안, 그리고 셋째와 넷째 날에는 각각 경구 투여 후에 24 h 동안 4°C 온도의 방에 두었다. 대조군(control)으로는 저온 처리나 시험물질 처리를 하지 않은 생쥐들로 하였다. 다섯째 날에 각 생쥐들에 대해 혈액과 기관 시료를 채취하여 아래의 분석을 수행하였다. 먼저, 생쥐 별로 체중과 비장(spleen), 가슴샘(thymus), 부신(adrenal gland) 기관들의 무게를 측정하였다.

#### 4. 실험 동물에서 가슴샘 T세포 소집단의 분포 분석

생쥐들의 가슴샘에 존재하는 림프구 소집단들의 분포를 정량하기 위하여, 아래와 같이 흥선 세포 시료를 마련하고, 유동 세포 분석을 실시하였다(Barbesti 등 2005). 형광물질이 표지된 단클론 항체로는 rat anti-mouse CD8 항체와 rat anti-mouse CD4 항체(Invitrogen, 미국)들을 사용하였다. 실험에 사용된 생쥐들의 가슴샘들을 유리구슬 조직 파쇄기로 갈아서 세포들을 분리하였고, 인산완충생리식염수(이하 PBS)로 2번 세척 및 원심분리하였다. 2%(v/v)의 불활성화한 우태혈청(fetal bovine serum, 이하 FBS)(GIBCO, 미국)과 0.1%(w/v)의  $\text{NaN}_3$ 를 포함한 40 mL의 PBS(이하 PBS-FBS- $\text{NaN}_3$ )에 세포를 부유시키고, 여기에 PBS-FBS- $\text{NaN}_3$ 로 희석시킨 각 항체액 10 mL씩을 첨가하였다. 이 혼합액을 얼음 수조에서 30 min 동안 놔두었다가, 420 g과 4°C의 조건에서 10 min 동안 원심분리하였다. 침전된 세포는 다시 PBS-FBS- $\text{NaN}_3$ 로 2번 세척 및 원심분리하였다. 세포들을 1%(w/v) p-formaldehyde로 고정하고, Bryte-HS 유세포 분석기(Bio-Rad Laboratories, 미국)로 유동 세포 분석을 실시하였다.

#### 5. 실험 동물에서 아스코르브산 농도 분석과 혈청 내 싸이토카인 농도 및 효소 활성도 분석

생쥐들 부신 중의 아스코르브산(ascorbic acid) 함량은 분광학적인 방법으로 분석하였다(Zannoni 등 1974). 생쥐들의 혈액 시료들을 4°C의 10,000× g에서 5 min 동안 원심분리하여 혈청 시료를 분리하였다. 혈청 속의 인터루킨-2(이하 IL-2), 인터루킨-12(이하 IL-12), 그리고 인터페론-감마(이하 IFN- $\gamma$ ) 함량은 효소면역분석법(enzyme linked immunosorbent assay, 이하 ELISA)으로 측정하였다. 혈청 속의 alanine aminotransferase(이하 ALT), aspartate aminotransferase(이하 AST), lactate dehydrogenase(이하 LDH), alkaline phosphatase(이하 ALP) 활성도는 Hitachi 7600 자동분석기(Hitachi, 일본)를 이용하여 분석

하였다.

#### 6. 통계적 분석법

모든 실험결과는 SPSS 22.0 통계 프로그램(IBM Co., USA)을 사용하여 통계처리 하였다. 실험결과들의 전체적인 유의성은 일원배치 분산분석(One-way ANOVA)으로 조사하였다. 실험군들 간의 차이성은 본페로니 교정에 의한 다중비교법으로 유의수준  $p < 0.05$ 에서 검증하였다. 실험값들의 수치는  $\text{mean} \pm \text{S.E.M.}$  값으로 표시하였다.

### 결 과

#### 1. DQP-1의 조성

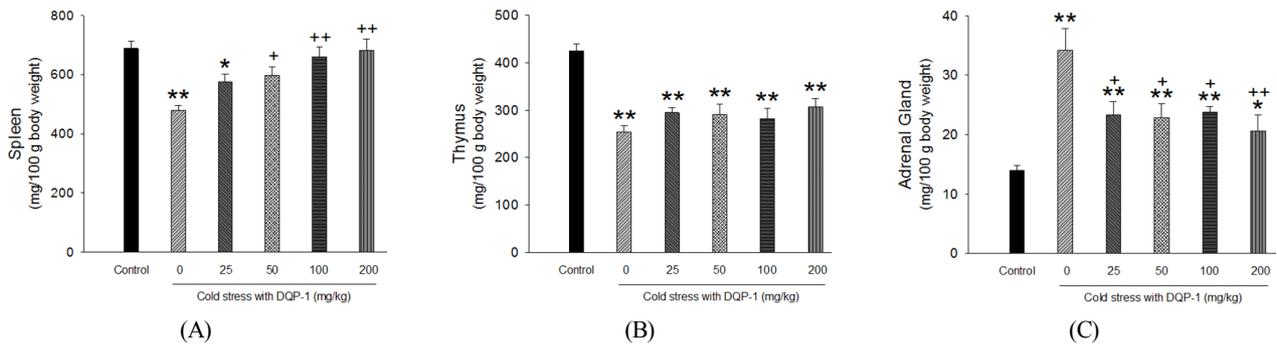
BCA 단백질 분석 키트를 이용하여, 본 연구에서 분리 정제한 DQP-1 분말의 단백질 함량을 분석한 결과, 98%(w/w) 이상 단백질로 이루어져 있음을 확인하였다. 또한, SDS-PAGE 전기 영동 실험법으로 분석한 결과, DQP-1 분말에서는 분자량 30 kDa 부근의 1개 폴리펩티드 밴드만이 주로 관찰되었다.

#### 2. 저온 스트레스에 의한 면역 장기들의 변화와 DQP-1의 처리 효과

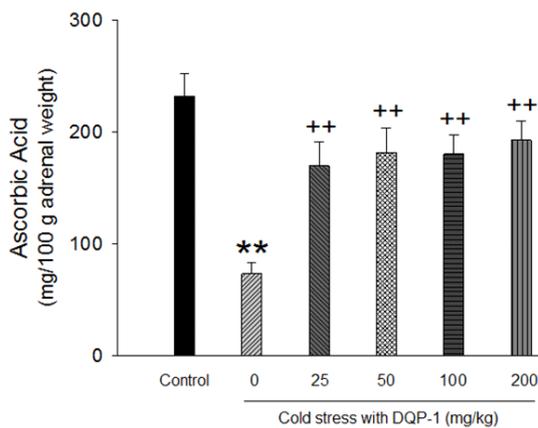
실험 기간 동안 모든 실험군 생쥐들의 체중은 약 2 g 내외로 증가하였으나, 실험군들 간의 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. 그러나, 저온 처리하여 스트레스를 유발시킨 생쥐들의 경우, 저온 처리를 하지 않은 경우에 비해 비장과 가슴샘의 체중 당 상대 무게가 각각 69.6%와 59.6% 수준으로 감소하였다. 부신의 상대 무게는 저온 스트레스에 의해 오히려 증가하였다. 그렇지만 DQP-1을 50 mg/kg 이상 경구 투여한 경우에는 저온 스트레스에 의한 비장의 상대 무게 감소와 부신의 상대 무게 증가를 유의하게 회복시켰다. 가슴샘의 무게 회복에는 영향이 거의 없었다(Fig. 1). 부신 중의 아스코르브산의 함량은 저온 스트레스로 인하여 31.5% 수준까지 떨어졌으나, DQP-1을 25 mg/kg 이상 경구 투여한 경우에 73% 이상의 수준까지 유의하게 회복시켰다(Fig. 2).

#### 3. 저온 스트레스에 의한 가슴샘 T세포 소집단 분포 및 혈중 면역 사이토카인 농도 변화와 DQP-1의 처리 효과

저온 스트레스를 받지 않은 생쥐들에 비해, 저온 스트레스를 받은 생쥐들의 가슴샘 T세포, 즉  $\text{CD4}^+$  세포들과  $\text{CD8}^+$  세포들, 그리고 더블 포지티브  $\text{CD4}^+$ ,  $\text{CD8}^+$  세포들의 백분율이 유의하게 감소되었다. 그러나, 역시 DQP-1을 경구 투여한 생쥐들의 경우에는 저온 스트레스에 의한 이러한 변화가 유의하게 억제되었고, 100 mg/kg 이상 투여로 해당 세포들의 백



**Fig. 1. Effects of DQP-1 on organ mass after cold stress.** (A) spleen, (B) thymus and (C) adrenal gland. Mice were exposed to cold stress for 4 days and orally received vehicle or DQP-1 (25, 50, 100 and 200 mg/kg) each day. The results are presented as the mean±S.E.M. of 9~10 mice per group. \* and \*\* denote significant differences ( $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ) from the control group. + and ++ denote significant differences ( $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ) from the vehicle group.



**Fig. 2. Effects of DQP-1 on ascorbic acid in adrenal glands after cold stress.** Mice were exposed to cold stress for 4 days and orally received vehicle or DQP-1 (25, 50, 100 and 200 mg/kg) each day. The results are presented as the mean±S.E.M. of 9~10 mice per group. \* and \*\* denote significant differences ( $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ) from the control group. + and ++ denote significant differences ( $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ) from the vehicle group.

분율을 거의 정상 수준까지 회복시켰다(Table 1). 저온 스트레스를 받지 않은 생쥐들에 비해, 저온 스트레스를 받은 생쥐들의 혈청에서는 IL-2, IL-12, IFN- $\gamma$ 의 농도가 유의하게 감소되었다. 그러나, DQP-1을 경구 투여한 생쥐들의 경우에는, 저온 스트레스에 의한 이러한 변화가 유의하게 억제되었으며, 오히려 100 mg/kg 투여로 IL-12와 IFN- $\gamma$ 의 농도는 저온 스트레스를 받지 않은 생쥐들보다도 증가하였다(Table 2).

**4. 저온 스트레스에 의한 혈청 내 효소 활성도의 변화와 DQP-1의 처리 효과**

저온 스트레스는 생쥐들의 혈청 효소 역가 수치를 증가시켰는데, 저온 스트레스를 주지 않은 경우에 비해 ALT, AST, LDH, ALP 효소들의 역가 수치가 각각 1.63, 1.59, 1.79, 4.43배 유의하게 증가하였다. 그러나, DQP-1을 경구 투여한 생쥐들의 경우에는 저온 스트레스에 의한 효소 역가 수치 상승이 유의하게 억제되었다(Fig. 3). ALT, AST, LDH 효소 역가는 시험한 모든 DQP-1 투여군에서 상승이 유의하게 억제되었으며, ALP 효소는 100 mg/kg 투여군에서 상승이 유의하게 억제되었다.

**Table 1. Effects of DQP-1 on lymphocyte subpopulations present in the thymus after cold stress.**

		T lymphocytes (%)			
		CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>-</sup>	CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>-</sup> CD8 <sup>-</sup>	CD4 <sup>-</sup> CD8 <sup>+</sup>
	Control	23.2±1.8	9.6±1.2	59.4±3.7	7.9±0.7
Cold stress	DQP-1 0	12.0±1.0**	7.0±0.1*	75.6±1.7*	5.0±0.5*
	DQP-1 100	15.6±2.1*	10.0±1.3	67.1±4.6	8.4±0.9
	DQP-1 200	19.1±2.0+	14.2±1.6 <sup>++</sup>	57.1±4.8 <sup>++</sup>	9.6±1.2 <sup>+</sup>

Fluorescent-labeled monoclonal antibodies, rat anti-mouse CD8 (FITC) antibody and rat anti-mouse CD4 (R-PE) antibody, were used to quantify the various lymphocyte subpopulations present in the thymus by flow cytometric analysis. The results are presented as the mean±S.E.M. of 9~10 mice per group. \* and \*\* denote significant differences ( $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ) from the control group. + and ++ denote significant differences ( $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ) from the vehicle group.

Table 2. Effects of DQP-1 on serum cytokine levels after cold stress.

			Concentrations of serum cytokines (pg/mL)		
			Interleukin-2	Interleukin-12	Interferon- $\gamma$
Control			32.3 $\pm$ 1.5	198.6 $\pm$ 19.2	42.0 $\pm$ 7.1
Cold stress	DQP-1 (mg/kg)	0	20.7 $\pm$ 0.9**	98.0 $\pm$ 11.8**	24.4 $\pm$ 2.2*
		100	24.5 $\pm$ 0.7+	249.3 $\pm$ 19.1**	46.6 $\pm$ 3.3**

Mice were exposed to cold stress for 4 days and orally received vehicle or DQP-1 (100 mg/kg) each day. Concentrations of serum cytokines were determined by enzyme-linked immunosorbent assay. The results are presented as the mean $\pm$ S.E.M. of 9~10 mice per group. \* and \*\* denote significant differences ( $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ) from the control group. + and \*\* denote significant differences ( $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ) from the vehicle group.

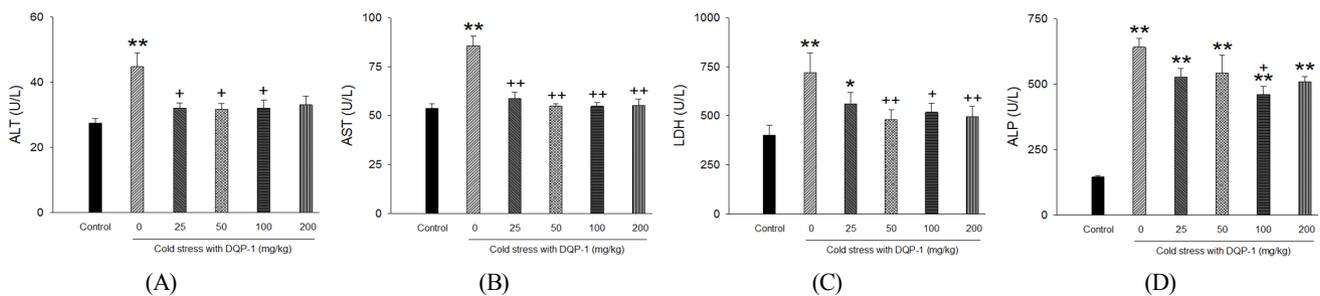


Fig. 3. Effects of DQP-1 on serum enzyme activities after cold stress. (A) alanine aminotransferase, (B) aspartate aminotransferase, (C) lactate dehydrogenase and (D) alkaline phosphatase. The results are presented as the mean $\pm$ S.E.M. of 9~10 mice per group. \* and \*\* denote significant differences ( $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ) from the control group. + and \*\* denote significant differences ( $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ) from the vehicle group.

## 고찰 및 결론

많은 실험 동물 연구들이 스트레스에 의해 면역계가 영향을 받는다는 것을 나타내고 있다(Dantzer & Kelly 1989). 열이나 추위에 의한 스트레스가 뇌하수체 부신피질 축의 활성화를 통해 흉선, 비장, 림프절 같은 림프 기관들의 퇴화를 야기할 수 있다는 것이 보고되어 있다(Sapsee AT 1984). 항체를 생산하는 B세포는 비장과 림프절에서 증식하므로, 이런 림프 기관들의 크기는 면역 반응과 연관된다. 저온에 노출된 생쥐들의 경우, 비장의 크기가 작아지고, 그에 따라 낮은 면역 반응성을 나타낸다는 것도 보고되었다(Cichon 등 2002). 본 연구의 동물 실험 결과에서 생쥐에 대한 DQP-1의 경구 투여가 저온 스트레스에 의한 비장의 상대 무게 감소를 유의하게 회복시킬 수 있음이 확인되었다. 이는 DQP-1이 스트레스에 의한 면역 기능 약화를 회복시킬 수 있음을 시사한다.

스트레스에 노출된 결과로 T세포의 증식이 억제된다는 것이 잘 알려져 있고, 혈액과 비장 림프구들에서 CD4<sup>+</sup> 세포들과 CD8<sup>+</sup> 세포들의 비율이 스트레스에 의해 감소된다는 것이 보고되어 있다(Shu 등 1993). CD4<sup>+</sup> T세포와 CD8<sup>+</sup> T세포는 효과적인 면역 반응 기전에 필수적이다. 본 연구의 동물 실험

과 유동 세포 분석의 결과에서도, 저온 스트레스를 받은 생쥐들의 비장 내 T세포들의 소분포 중 CD4<sup>+</sup> 세포들과 CD8<sup>+</sup> 세포들의 비율이 낮아진다는 것이 확인되었다. 그러나, DQP-1이 경구 투여된 생쥐들의 경우에 CD4<sup>+</sup> 세포와 CD8<sup>+</sup> 세포의 비율 감소가 효과적으로 억제되고 정상화되었으며, 이는 저온 스트레스에 의한 면역 기능 저하를 DQP-1이 회복시킬 수 있음을 보여준다.

또한, 저온 스트레스를 받지 않은 생쥐들에 비해 저온 스트레스를 받은 생쥐들의 혈청에서는 면역 관련 싸이토카인 IL-2, IL-12 및 IFN- $\gamma$ 의 농도가 유의하게 감소되는 것이 본 연구에서 확인되었다. 그리고, DQP-1을 경구 투여한 생쥐들의 경우에는 저온 스트레스에 의한 이러한 변화가 유의하게 억제되었으며, 오히려 IL-12와 IFN- $\gamma$ 의 농도는 저온 스트레스를 받지 않은 생쥐들보다도 증가하였다. 이 역시 저온 스트레스에 의한 면역 기능 저하를 DQP-1이 회복시킬 수 있음을 나타낸다.

본 연구에서는 저온 스트레스 후에 생쥐 혈액 내 장기 손상 관련 생화학적 지표들의 변화도 측정하였다. LDH와 AST 효소 수치는 간 손상이나 심장 이상의 지표이고, ALT와 ALP는 간 손상의 지표로서 해당 장기의 손상과 지표 수치의 상승

이 연관되어 있다. 본 연구의 동물 실험으로 확인된 결과, 저온 스트레스가 생쥐 혈액의 LDH, AST, ALT 및 ALP 수치를 모두 상승시켰는데, 이는 저온 스트레스가 장기 손상을 야기할 수도 있음을 나타낸다. 그러나, DQP-1을 생쥐에 경구 투여한 경우, LDH, AST, ALT 수치 상승이 유의하게 억제되고 정상화됨이 확인되었다. 이 결과는 저온 스트레스에 의한 장기 손상 가능성에 대해 DQP-1의 간접적인 완화 효과를 기대하게 한다.

위와 같은 동물 실험 결과들은 인체에서도 스트레스에 의한 면역 기능의 약화를 DQP-1을 섭취함으로써 회복시키고, 정상화시킬 가능성이 있음을 시사하고 있다.

## References

- Barbesti S, Soldini L, Carcelain G, Guignet A, Colizzi V, Mantelli B, Corvaglia A, Tran-Minh T, Dorigatti F, Autran B, Lazzarin A, Beretta A. 2005. A simplified flow cytometry method of CD4 and CD8 cell counting based on thermoresistant reagents: Implications for large scale monitoring of HIV-infected patients in resource-limited settings. *Cytometry B Clin Cytom* 68:43-51
- Cichon M, Chadzinska M, Ksiazek A, Konarzewski M. 2002. Delayed effects of cold stress on immune response in laboratory mice. *Proc Biol Sci* 269:1493-1497
- Dantzer R, Kelley KW. 1989. Stress and immunity: an integrated view of relationships between the brain and the immune system. *Life Sci* 44:1995-2008
- Gaidamashvili M, Ohizumi Y, Iijima S, Takayama T, Ogawa T, Muramoto K. 2004. Characterization of the yam tuber storage proteins from *Dioscorea batatas* exhibiting unique lectin activities. *J Biol Chem* 279:26028-26035
- Herbert TB, Cohen S. 1993. Stress and immunity in humans: A meta-analytic review. *Psychosom Med* 55:364-379
- Jang JG. 2009. Healthy Mountain Weeds. pp.202. Nexus Co.
- Kim HY, Kim SS, Bae SH, Bae EH, Ma SK, and Kim SW. 2014. Acute interstitial nephritis induced by *Dioscorea quinqueloba*. *BMC Nephrology* 15:143
- Kim SB, Hwang WG, Sung WG. 2007. Composition comprising an extract of *Dioscorea quinqueloba* showing anti-oxidative, anti-aging by anti-lipidperoxidative, anti-inflammatory and discharge of phlegm activity. Korean Patent 10-0684434
- Kim SB, Hwang WG, Sung WG. 2007. Composition comprising the extract of *Dioscorea quinqueloba* and *Viscum album* var. *coloratum* showing anti-oxidative, anti-aging by anti-lipidperoxidative, anti-inflammatory and discharge of phlegm activity. Korean Patent 10-068 4435
- Kim SB, Hwang WG, Sung WG. 2007. Composition comprising the extract of *Dioscorea quinqueloba* and *Acanthopanax senticosus* showing anti-oxidative, anti-aging by anti-lipidperoxidative, anti-inflammatory and discharge of phlegm activity. Korean Patent 10-068 4436
- Korea National Arboretum. 2016. The knowledge information system of national species resource. Available from <http://www.nature.go.kr> [cited 6 February 2017]
- Lu YL, Chia CY, Liu YW, Hou WC. 2012. Biological activities and applications of dioscorins, the major tuber storage proteins of yam. *J Tradit Complement Med* 2:41-46
- Sapsee AT. 1984. Stress, cortisol, interferon and stress diseases. I. cortisol as the cause of stress diseases. *Med Hypotheses* 13:31-44
- Segerstrom SC, Miller GE. 2004. Psychological stress and the human immune system: A meta-analytic study of 30 years of inquiry. *Psychol Bull* 130:601-630
- Shu J, Stevenson JR, Zhou X. 1993. Modulation of cellular immune responses by cold water swim stress in the rat. *Dev Comp Immunol* 17:357-371
- Zannoni V, Lynch M, Goldstein S, Sato P. 1974. A rapid micromethod for the determination of ascorbic acid in plasma and tissues. *Biochem Med* 11:41-48

Received 29 November, 2017

Revised 13 February, 2018

Accepted 07 March, 2018