

## Cyclophosphamide에 의해 유도된 면역저하 마우스 모델에서 홍도라지 추출물의 면역 기능 조절 효과

최지혜<sup>1#</sup> · 이은별<sup>1#</sup> · 박양규<sup>1</sup> · 이해경<sup>1</sup> · 장환희<sup>1</sup> · 최정숙<sup>1</sup> · 황경아<sup>1</sup> · 박신영<sup>1</sup> ·  
황인국<sup>1</sup> · 홍하철<sup>1</sup> · 이해정<sup>2</sup> · 정현철<sup>3</sup> · 김현주<sup>4</sup> · 이성현<sup>1\*</sup>  
<sup>1</sup>농촌진흥청 국립농업과학원, <sup>2</sup>가천대학교 식품영양학과,  
<sup>3</sup>SK바이오랜드 식품연구소, <sup>4</sup>세계김치연구소

## Aged Doraji (*Platycodon grandiflorum*) Ameliorates Cyclophosphamide- Induced Immunosuppression in Mice

Ji-Hye Choi<sup>1#</sup>, Eun Byeol Lee<sup>1#</sup>, Yang-Gyu Park<sup>1</sup>, Hye Kyung Lee<sup>1</sup>, Hwan Hee Jang<sup>1</sup>, Jeongsook Choe<sup>1</sup>,  
Kyung-A Hwang<sup>1</sup>, Shin Young Park<sup>1</sup>, In Guk Hwang<sup>1</sup>, Ha Cheol Hong<sup>1</sup>, Hae-Jeung Lee<sup>2</sup>,  
Hyun Cheol Jeong<sup>3</sup>, Hyun-Ju Kim<sup>4</sup>, and Sung Hyen Lee<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju-Gun, Jeollabuk-do 55365, Korea

<sup>2</sup>Department of Food and Nutrition, Gachon University, Seongnam, Gyeonggi 13120, Korea

<sup>3</sup>Food R&D Center, SK bioland Co. Ltd., Ansan, Gyeonggi 15407, Korea

<sup>4</sup>World Institute of Kimchi, Nam-Gu, Gwangju 61755, Korea

**Abstract** – This study was done to examine immunomodulative effects of aged doraji (AD) in the immune-suppressed mice induced by cyclophosphamide. The immune-stimulating effects of ethanol AD extract in in vivo at 75 and 150 mg/kg body weight (BW) for AD and 2AD groups were evaluated and compared to the normal doraji group (2ND, 150 mg/kg BW) treated with a doraji without aging process. After the 10 days of oral supplement, body and immune related organ weights, serum immunoglobulin G (IgG) and cytokines levels, splenocytes proliferation rate, and splenic NK cell activity were measured as immune-related biomarkers. Body weight and serum IgG level increased in the 2AD group. But, the serum Th2 cytokine (IL-6, TNF- $\alpha$ ) levels were lower in the AD and 2AD groups, respectively. Splenic T cell and B cell proliferation and NK cell activity increased in the doraji groups and the significant increases were found only in the 2AD group. Thus, the aged doraji extract may affect body weight, serum IgG level, splenocytes proliferation, and splenic NK cell activity, and normalize the Th2 cytokine levels in the immune-suppressed mice. The results suggest that the aged doraji improves effectively immune system rather than the normal one.

**Keywords** – *Platycodon grandiflorum*, Immune, Splenocyte proliferation, Serum cytokine, NK cell activity

최근 환경오염이나 각종 스트레스, 영양결핍이나 노화 등 다양한 원인에 의해 면역력 저하 증상이 심각해지고 있으며 이를 개선하기 위한 식·의약품에 대해 관심이 증가하고 있다.<sup>1)</sup> 국민을 대상으로 한 소비자실태조사에 의하면 건강 기능식품 구매 시 ‘면역력 증진’을 고려하는 비율이 46.9%로 높게 나타났으며,<sup>2)</sup> 면역 관련 건강기능식품을 구매할 때 면역력증가(37.8%), 감기예방(24.3%), 질병예방(15.3%)과

관련된 기대감을 갖는 것으로 조사되었다.<sup>3)</sup> 이러한 소비자의 기대감에 발맞추어 관련 업체들에서도 면역 증진 소재 개발 연구가 활발히 진행 중이다. 면역은 인체가 항원에 대해 자신을 방어하는 보호 기작으로서 선천성 면역반응과 후천성 면역 반응으로 분류할 수 있다. 후천성 면역반응은 병원체 등 항원 노출에 의해 생긴 면역을 말한다.<sup>5)</sup> 다양한 면역원에 대한 경험을 바탕으로 얻어진 후천적 면역반응은 선천적 면역반응 후에 특히 항원을 인식하여 면역반응이 일어나게 되고, T세포나 B세포가 관여한다.<sup>4)</sup>

도라지(*Platycodon grandiflorum*)는 오래 전부터 기침 완

#Equal contribution

\*교신저자(E-mail): lshin@korea.kr

(Tel): +82-063-238-3681

화 등의 목적으로 널리 사용되어 온 초롱꽃과(*Campanulaceae*)에 속하는 여러해살이 풀이다. 우리나라를 비롯하여 중국, 일본 등지에 자생하는 도라지는 식용 및 약용으로 이용되고 있으며,<sup>6)</sup> 도라지의 뿌리 부분인 길경(桔梗)을 주로 섭취한다. 도라지는 섬유질, 칼슘 및 철을 많이 함유하고,<sup>7,8)</sup> 한방에서 기관지염이나 천식 등의 기관지계 질환에 효과가 있는 것으로 보고되었다.<sup>9)</sup> 도라지의 생리활성물질은 platycodin A, C, D 및 polygalacin D 등과 같은 사포닌에 의한 것으로,<sup>10,11)</sup> platycodin D는 항염, 당뇨 예방 외에 항암 효과가 있다.<sup>12-15)</sup>

항암제나 면역억제제로 사용되는 cyclophosphamide(CPA)는 알킬화제로서 장기 이식이나 골수 이식 시에 나타나는 거부반응의 억제제 및 악성종양의 치료목적으로 사용된다. 그러나 CPA는 정상세포에도 독성이 나타나게 되어 체중 감소, 급성 백혈병, 간 기능 장애, 빈혈 및 탈모증 등의 부작용을 유발하고, 장기적으로 사용할 때 나타나는 문제들에 대한 심각성이 대두되어 왔다. 따라서 독성을 가진 면역억제제의 부작용이나 독성을 억제할 수 있는 천연 소재의 개발이 절실한 상황이다.<sup>16-18)</sup>

홍삼, 산양삼, 더덕, 잔대 등의 뿌리채소는 면역세포를 증식시켜 면역력 강화에 도움을 주는 것으로 알려져 있다.<sup>5,19-21)</sup> Ryu는 도라지의 물 추출물을 마우스에게 경구 투여하였을 때, 500 mg/kg 체중 수준에서 비장세포의 증식과 복강 대식세포의 활성화를 유도하여 면역기능이 증진된다고 보고하였다.<sup>22)</sup> 본 연구팀의 선행연구에 의하면 도라지 주정 추출물은 150 mg/kg 체중 수준에서 면역 저하된 마우스의 면역력을 유의적인 수준에서 개선할 수 있는 것으로 보고하였다.<sup>23)</sup> 그러나 도라지는 특유의 아리고 쓴맛이 강해서 이를 개선하면서 도라지의 생리활성 물질인 platycodin D 함량을 증가시키도록 숙성과정을 거쳐, 홍삼과 유사한 형태의 홍도라지를 개발하게 되었다.

숙성된 홍도라지는 맛이 개선되었을 뿐 아니라 주요 기능성 물질인 platycodin D 함량이 2.6배 증가하여 면역 증진 효과가 우수할 것으로 생각되나 이에 대한 연구가 부족한 실정이다.<sup>24)</sup> 따라서 본 연구에서는 마우스에 면역저하를 유도하고 홍도라지 추출물이 면역 기능에 미치는 영향을 확인하였다. 특히 이전 연구에서 보고된 면역력 증진 효과를 갖는 일반 도라지의 급여수준(150 mg/kg 체중)을 고려하고,<sup>23)</sup> 홍도라지의 경우 그 양을 절반으로(75 mg/kg 체중) 조절하여 면역력 향상 효과 여부를 평가하였다.

## 재료 및 방법

**실험재료** - 연구에 사용한 일반 도라지와 숙성 과정을 거친 홍도라지 추출물은 SK바이오랜드에서 제공하였고, 증거표본(RDAD01, RDAAD02)은 국립농업과학원 농식품자원

부에 보관하였다. 실험에 사용된 홍도라지는 국내산 생도라지 뿌리를 120분 동안 증숙하고 24시간 건조하여 90분 증숙하는 과정을 9번 반복하고, 이를 72시간 건조하여 제조하였다. 홍도라지 추출물은 원물을 50% 주정으로 80°C에서 8시간 동안 2회 추출하여 필터프레스 여과한 후 60% 이상 농축하고, 스프레이 건조하여 본 실험에 사용하였다.<sup>25)</sup>

**실험동물 및 식이** - 본 시험에는 Specific-pathogen free (SPF) 상태의 6주령 수컷 C57BL/6 mouse 32마리(8마리/실험군)를 (주)중앙실험동물(Seoul, Korea)로부터 구입하여 사용하였다. 사육기간 중의 식이로 일반 고형사료와 물을 자유 급여하였으며, 온도 23±2°C, 습도 50±10%, 12시간 단위로 명암주기를 조절하였다. 마우스는 1주일 동안 실험환경에 적응시킨 후, CPA를 1일에 150 mg/kg 체중, 3일에 110 mg/kg 체중을 복강 투여하여 면역 저하를 유도하였다. 마지막 투여가 끝난 24시간 후에 실험동물의 체중을 측정하였고, 난괴법(randomized complete block design)에 따라 4개의 실험군으로 분류하였으며 평균 체중은 약 21.3 g(±0.2)이 되도록 조정하였다. 본 실험에서는 숙성과정을 거쳐 platycodin D 함량이 증가된 홍도라지의 면역증진효과를 일반 도라지와 비교하였다. 4개의 실험군은 대조군(Cont), 일반도라지 2ND(150 mg/kg 체중), 홍도라지 AD (75 mg/kg 체중), 2AD(150 mg/kg 체중)로 구성하였다. 모든 추출물은 PBS로 희석하였고, 대조군은 용매로 사용된 PBS를 10일간 경구로 투여(1회/일)하였다. 본 연구에 사용된 동물실험 관련 모든 실험과정 절차는 농촌진흥청 국립농업과학원 동물실험윤리위원회의 승인(NAS-201807)을 받은 후에 수행하였다.

**혈액 및 면역장기의 채취** - 실험 기간이 종료된 마우스는 체중을 측정한 뒤 CO<sub>2</sub>로 마취하고 혈액을 채취 하였다. 수집된 혈액은 원심 분리용 시험관에 담아 2,000 rpm, 4°C에서 15분간 원심 분리하여 혈청을 얻었으며, 면역글로블린 G, 사이토카인 등 면역 관련 요인 분석에 이용하였다. 혈액이 채집된 마우스는 경추탈골하여 안락사 시켰고, 비장을 적출하여 면역세포의 증식능과 NK 세포의 활성 평가에 사용하였다.

**혈청 내 면역글로블린 G 및 사이토카인의 함량 측정** - 도라지의 혈청 면역 관련 지표에 미치는 영향을 평가하기 위해 면역글로블린 G와 사이토카인(IL-6, TNF-α) 함량을 측정하였다. 분석에는 ELISA kit(Abcam, London, UK)를 이용하였고 5분 동안 반응시킨 후에 Microplate reader(Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도(OD)를 측정하였다. 사이토카인의 농도는 kit에 포함되어 있는 표준용액에서 산출된 표준곡선으로부터 계산하여 사용하였다.

**비장세포의 증식능 측정** - 실험동물에서 비장을 적출하여 HBSS(Difco, USA)로 2회 세척하였고, 세포 배양접시에

서 10 mL의 HBSS를 가한 뒤, 40 µm nylon cell strainer (BD Biosciences, San Jose, CA, USA)를 이용하여 균질화하였다. 이렇게 얻어진 비장세포를 Histopaque(Sigma, USA) 위에서 처리하여 림프구를 분리하고, 세포를 세척한 후 배양액(RPMI 1640, 10% FBS, 100 U/mL penicillin, 100 mg/mL streptomycin)에서  $3.0 \times 10^6$  cells/mL로 분산시킨 후 96-well plate(Nunc, Roskilde, Denmark)에 100 µL씩 분주하여 세포 증식능 측정에 사용하였다. Con A(Sigma-Aldrich Co, USA)와 LPS(Sigma-Aldrich Co, USA)는 최종농도가 각각 5 µg/mL와 1 µg/mL 되도록 첨가하였고, 대조군에는 배양액을 동량 분주하였으며, 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 46시간 배양이 끝난 후, 각 well 당 10 µL의 MTS (Promega Corporation, Madison, WI, USA)를 이용하여 2시간 동안 반응시켰고, microplate reader를 이용, 490 nm에서 흡광도(OD)를 측정하여 활성을 비교하였다.

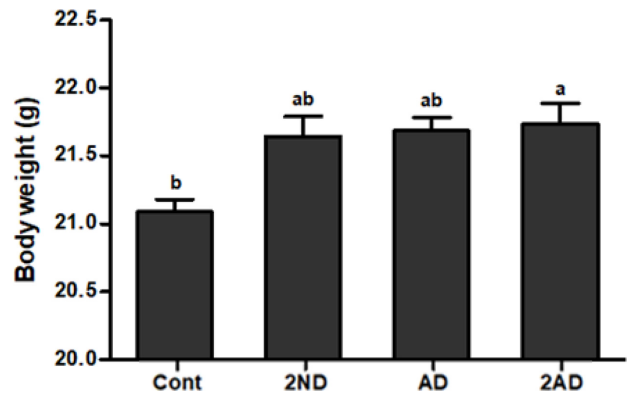
**NK 세포의 활성 측정** - 비장에서 채취한 NK 세포를 96-well plate에 각각 well 당  $1 \times 10^6$  cells/ml씩 분주하였다. 표적 세포는 Yac-1로  $1 \times 10^4$  cells/well 분주하고(effector-to-target 세포비가 100:1), 37°C, 5% CO<sub>2</sub>에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 MTS Assay kit(Promega Corporation, Madison, WI, USA)을 이용하여 Microplate reader로 490 nm에서 흡광도(OD)를 측정하였다.

**통계처리** - 모든 데이터는 Mean±S.E로 나타내었고 통계 처리는 SPSS 프로그램(Statistical Package for the Science ver. 24, IBM Corp, Armonk, NY, USA)을 이용하여 One-way ANOVA(one-way analysis of variance)를 실시한 후, Duncan's multiple range test로  $p < 0.05$  수준에서 유의성을 표시하였다.

### 결과 및 고찰

**면역저하 마우스에서 홍도라지 추출물의 안전성** - 우리나라에서 전해오는 구증구포(9 repetitive steaming) 방법으로 도라지를 반복해서 가열·건조하게 되면 홍도라지(aged doraji, AD)가 된다. 홍삼은 가공 중에 특유의 사포닌 성분으로 전환되기에 많은 연구가 진행되어져 왔으나,<sup>26)</sup> 홍도라지에 대한 연구는 미흡한 실정이었다. 따라서 본 연구팀은 도라지의 기능성분을 증가시키도록 도라지를 가공하였고, 이렇게 만들어진 홍도라지 추출물의 면역증진에 미치는 영향을 확인하였다.

CPA 투여로 유발된 면역저하 환경에서 홍도라지 추출물이 마우스의 면역 활성화에 미치는 영향을 평가하였다. 실험동물의 식이 및 음용수 섭취량과 행동유형은 모든 실험군 사이에 차이를 보이지 않았으나, Koo 등의 보고에서와 같이 CPA 투여로 마우스의 체중이 약 5% 감소하였다(자료 제시하지 않음).<sup>27)</sup> 그러나 일반도라지(150 mg/kg 체중) 및

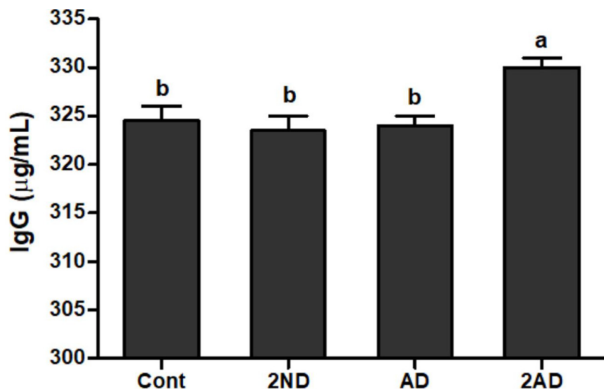


**Fig. 1.** Effects of doraji extracts on the body weights of C57BL/6 mice immunosuppressed by cyclophosphamide. 2ND, normal doraji 150 mg/kg BW; AD, aged doraji 75 mg/kg BW; 2AD, 150 mg/kg BW. The data were analyzed by one-way ANOVA using SPSS software and each bar presents the mean ± SEM (n=8). <sup>ab</sup>Mean values with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) among groups by Duncan's multiple range test.

홍도라지는 사용된 수준(75, 150 mg/kg 체중)에서 면역저하 동물모델의 안전성에 문제가 없는 것으로 나타났다. 즉, CPA 투여에 의해 면역 저하된 실험동물(C57BL/6 mouse)에 일반도라지(2ND) 및 홍도라지(AD, 2AD) 추출물을 10일간 경구 투여하였을 때, 체중은 대조군(Cont)과 유사하거나 홍도라지 추출물 섭취군(2AD)에서 대조군보다 3% 높게 나타났다. 따라서 홍도라지 추출물(2AD)은 150 mg/kg 체중 수준에서 면역저하에 의해 감소된 체중을 효과적으로 증가시킬 수 있는 것으로 보인다(Fig. 1).

**혈중 면역글로불린 G 수준에 미치는 영향** - 홍도라지 추출물의 급여가 마우스의 면역 활성화에 미치는 영향을 확인하기 위해, 혈중 면역 관련 지표인 IgG 수준을 분석하였다. IgG는 대조군, 일반도라지 섭취군(2ND), 홍도라지 AD군에서 약 323 µg/mL로 실험군 사이에 차이가 없었으나, 2AD 군에서 330 µg/mL로 가장 높은 수준을 보였다(Fig. 2). 따라서 숙성과정을 거친 홍도라지는 일반도라지보다 혈중 면역 관련 지표인 면역글로불린 G 수준에 영향을 줄 수 있는 것으로 보인다.

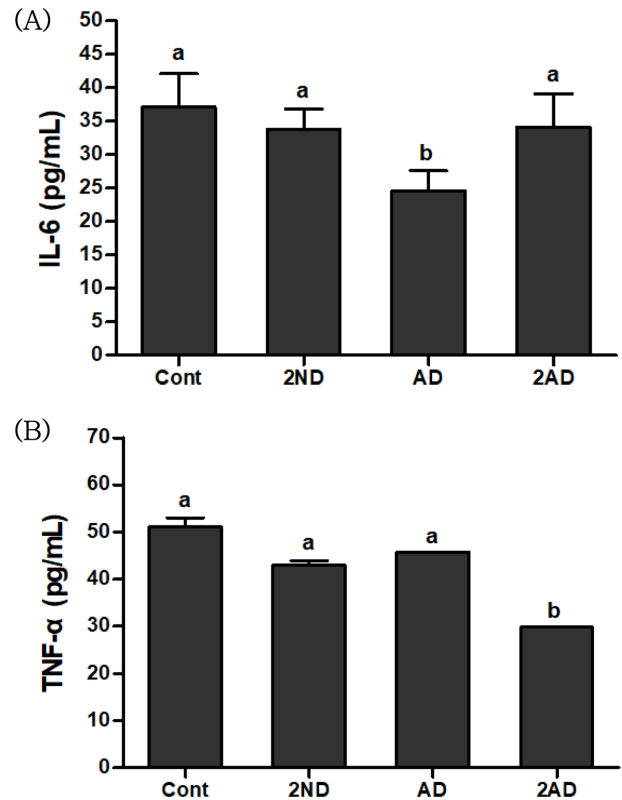
**혈중 사이토카인 수준에 미치는 영향** - CPA는 T 림프구의 수를 감소시켜, 면역세포로부터 분비되는 단백질로서 표적 세포에 신호를 전달하고 면역반응 조절에 중요한 역할을 담당하는 사이토카인의 분비에 영향을 주는 것으로 알려져 있다.<sup>28-30)</sup> CPA 처리에 의해 면역저하 된 모델에서 Th2 관련 사이토카인 수준의 향상이 보고되는데, 본 연구에서 홍도라지 추출물의 급여가 면역저하된 마우스의 사이토카인 수준에 영향을 줄 수 있는지 분석하였다. 그 결과 홍도라지 추출물은 체액성 면역력에 영향을 미치는 Th2 사이토



**Fig. 2.** Effects of doraji extracts on the serum IgG level in C57BL/6 mice immunosuppressed by cyclophosphamide. 2ND, normal doraji 150 mg/kg BW; AD, aged doraji 75 mg/kg BW; 2AD, aged doraji 150 mg/kg BW. The data were analyzed by one-way ANOVA using SPSS software and each bar presents the mean  $\pm$  SEM (n=8). <sup>a,b</sup>Mean values with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) among groups by Duncan's multiple range test.

카인들의 분비에 영향을 주는 것으로 나타났다(Fig. 3). 즉 혈중 IL-6 수준은 대조군(37.1 pg/mL)과 비교하여 일반도라지 추출물 섭취군(2ND)에서 33.8 pg/mL, 홍도라지 AD군에서 24.6 pg/mL, 2AD군에서 34.1 pg/mL로 모든 도라지 추출물 섭취군에서 감소하는 경향을 보였다. 특히 홍도라지 AD군은 일반도라지(2ND)의 절반 수준으로 대조군에 비하여 면역저하 유도모델에서 보이는 IL-6 수준 증가를 33.7% 감소시켜 대조군과 유의적인 차이를 보였다. 또한 면역저하 마우스에서 향상되는 것으로 관찰되는 TNF- $\alpha$  수준은 대조군 51.0 pg/mL, 일반도라지군(2ND) 42.8 pg/mL, 홍도라지 AD군에서 45.7 pg/mL, 2AD군에서 29.8 pg/mL로 나타나, 홍도라지 추출물의 투여로 인해 각각 10.4%와 41.6% 감소되었다. 따라서, 홍도라지 추출물은 Th2 사이토카인들의 분비 조절에 영향을 줄 수 있고, 이들의 급여 수준을 조절함으로써 홍삼 등과 같이 화학요법에 의한 면역 억제 증상 개선에 효과가 있을 것으로 보인다.<sup>31)</sup>

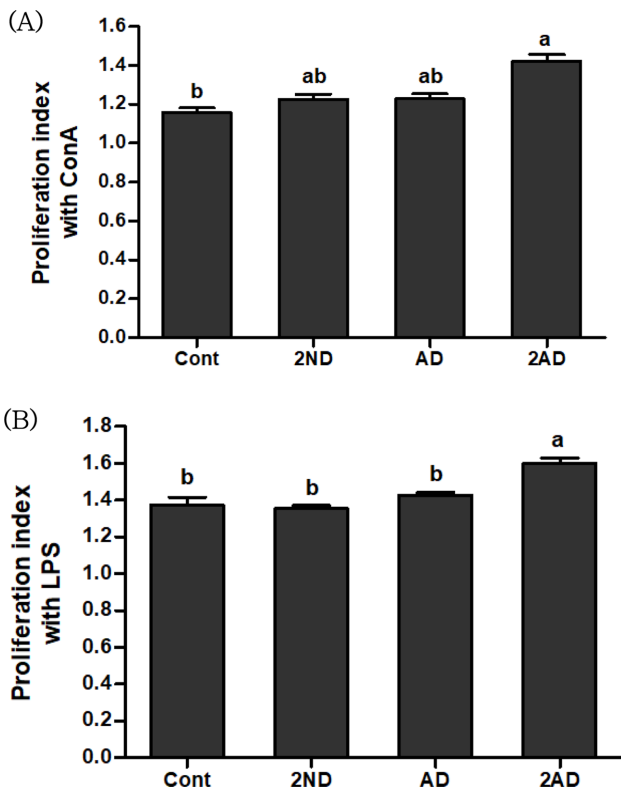
**비장 면역세포의 증식에 미치는 영향.** 비장은 혈액을 여과하고 이차 림프조직으로 작용하여 혈액 속 항원을 제거하고 면역세포를 활성화시켜 외부 항원에 대해 적응 면역 반응을 시작한다. T 세포와 B 세포는 혈액을 따라 순환하고 비장에서 유입과 배출이 지속적으로 이루어져서 비장세포의 수 변화는 림프구의 변화를 나타낸다고 본다.<sup>32)</sup> CPA는 비장세포의 DNA를 알킬레이션시켜, T 및 B 임파구에 의한 면역반응을 억제시키므로, 본 연구에서는 홍도라지 추출물이 CPA에 의해 저해된 비장 면역세포반응에 영향을 줄 수 있는지 평가하였다.<sup>33)</sup> 홍도라지 추출물의 급여가 비장세포의 증식에 미치는 영향을 확인하기 위해 세포와 함께 미



**Fig. 3.** Effects of doraji extracts on serum IL-6 and TNF- $\alpha$  levels (A, B) of C57BL/6 mice immunosuppressed by cyclophosphamide. 2ND, normal doraji 150 mg/kg BW; AD, aged doraji 75 mg/kg BW; 2AD, aged doraji 150 mg/kg BW. The data were analyzed by one-way ANOVA using SPSS software and each bar presents the mean  $\pm$  SEM (n=8). <sup>a,b</sup>Mean values with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) among groups by Duncan's multiple range test.

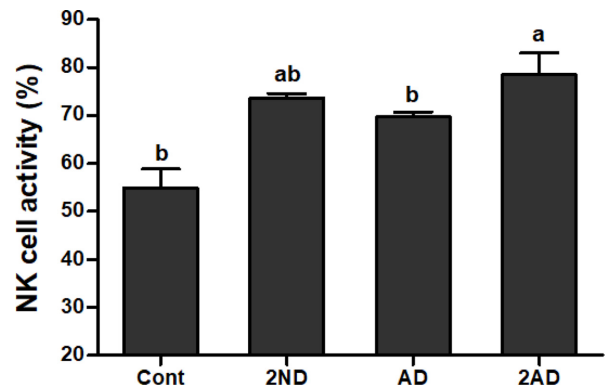
토젠을 첨가하여 배양하였고, 비장세포의 증식을 비교하였다. 그 결과, proliferation index(PI)는 Con A를 처리하였을 때, 대조군 1.15와 비교하여 2ND군 1.25, AD군 1.23, 2AD군 1.42로 모든 도라지 섭취군에서 비장세포 증식능이 관찰되었고, 2AD군에서 23% 수준에서 유의적인 증가를 보였다(Fig. 4A). Chun 및 Kim은 어성초 추출물이 T 세포에 대하여 세포 증식능을 향상시켜 면역을 증진하는 효과가 있는 것으로 보고하였다.<sup>34,35)</sup> 또한 LPS를 처리하고 PI를 비교하였을 때, 대조군 1.37과 비교하여 2ND군 1.35, AD군 1.42, 2AD군 1.60으로 일반도라지는 LPS에 대해 비장 면역세포의 증식에 영향을 주지 않았으나 홍도라지(AD, 2AD)는 3%와 16%씩 비장 세포 증식 효과를 보였다(Fig. 4B). 따라서 홍도라지는 일반 도라지보다 그리고 농도 의존적으로 비장 면역세포의 증식에 영향을 줄 수 있는 것으로 나타났다.

**비장 NK 세포 활성화에 미치는 영향 - 선천적 면역계(innate immune system)**는 대식세포(macrophage)와 자연 살해 세포



**Fig. 4.** Effects of doraji extracts on T and B cell proliferation (A, B) in splenocytes of C57BL/6 mice immunosuppressed by cyclophosphamide. 2ND, normal doraji 150 mg/kg BW; AD, aged doraji 75 mg/kg BW; 2AD, aged doraji 150 mg/kg BW. The data were analyzed by one-way ANOVA using SPSS software and each bar presents the mean  $\pm$  SEM (n=8). <sup>a,b</sup>Mean values with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ) among groups by Duncan's multiple range test.

인 natural killer cell(NK cell) 등을 포함하여 백혈구, 사이토카인 등으로 구성되어 있다. 보통 감염에 대한 적응 면역이 발생하기 전에 1차적인 방어 역할을 한다. NK 세포는 세포 내의 미생물에 의해 감염된 세포나 암세포를 찾아가서 죽이거나, 단핵구나 수지상세포 등 타 포식세포를 활성화시키는 사이토카인을 포함한 수용성 인자를 분비하여 숙주를 보호한다.<sup>36,37</sup> NK 세포는 선천 면역계의 핵심적인 요소로 알려져 있고,<sup>38</sup> 본 연구에서 면역이 저하된 마우스의 비장 NK 세포에서 홍도라지 추출물의 NK 세포 활성화에 미치는 영향을 분석하였다. 그 결과 대조군(54.8%)과 비교하여 일반도라지군(2ND)에서 73.6%, AD군에서 69.7%, 2AD군에서 78%로 모든 도라지 섭취군에서 NK 세포 활성이 증가하는 경향을 보였고, 2AD군에서 대조군보다 유의적으로 향상되었다(Fig. 5). 즉, 홍도라지 추출물(AD)은 절반 수준에서 일반도라지 추출물(2ND)과 유사한 경향을 보였고, 홍도라지 추출물(2AD)은 같은 수준에서 일반도라지보다 4.4%



**Fig. 5.** Effects of doraji extracts on natural killer cell activity against Yac-1 in splenocytes of C57BL/6 mice immunosuppressed by cyclophosphamide. 2ND, normal doraji 150 mg/kg BW; AD, aged doraji 75 mg/kg BW; 2AD, aged doraji 150 mg/kg BW. NK cells ( $1 \times 10^6$  cells/well) in splenocytes were incubated with Yac-1 cells ( $1 \times 10^4$  cells/well) for 24h. NK cell activity was measured by ELISA reader. The data were analyzed by one-way ANOVA using SPSS software and each bar presents the mean  $\pm$  SEM (n=8). <sup>a,b</sup>Mean values with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ) among groups by Duncan's multiple range test.

향상된 비장의 NK 세포 활성을 보였다. 따라서 홍도라지 추출물의 급여는 면역력이 저하된 상태에서 선천면역을 조절하여 면역력을 증진시킬 수 있을 것으로 보이며, 면역 증진 소재로서 활용 가치가 높을 것으로 기대된다.

### 결론

오염된 환경이나 각종 스트레스 등으로 인한 면역저하 및 관련된 질환 발병이 빈번해짐에 따라 면역 증진 소재 발굴에 관심이 높아지고 있다. 도라지는 항균, 항암 및 면역을 증진시키는 효과가 있는 것으로 보고되었으나 아리고 쓴 맛이 강하여 섭취가 제한되어 왔다. 따라서 본 연구에서는 도라지를 숙성 처리하여 기호도를 높일 뿐 아니라 기능성 물질인 platycodin D 함량이 증가된 홍도라지의 면역 조절 효과를 평가하였다. 즉 CPA 투여로 인하여 면역력이 억제된 마우스에게 10일간 홍도라지 추출물을 급여하고 면역 관련 인자에 미치는 영향을 분석하였다. 그 결과, 홍도라지 추출물은 CPA 처리에 의해 감소된 체중을 증가시키고, 농도의존적으로 혈중 면역글로불린 G 함량을 향상시킨 반면, 혈중 Th2 사이토카인(IL-6, TNF- $\alpha$ )의 수준은 감소시켰다. 또한 일반도라지 추출물은 Con A 및 LPS에 대하여 비장 면역세포의 증식에 영향을 주지 않았으나, 홍도라지 추출물은 농도 의존적으로 비장 면역세포의 증식 효과를 나타내었다. 또한 홍도라지 추출물은 비장의 NK 세포 활성을 증가시켜 선천적 면역계에 관여할 수 있는 것으로 나타났다. 지금까

지의 분석 결과를 종합해 볼 때, 홍도라지 추출물은 면역억제된 마우스의 면역 조절에 선행연구에서 확인되었던 일반도라지 추출물보다 면역 조절 효과가 우수한 것으로 확인되었다. 따라서 홍도라지는 면역 증진에 관련된 기능성 소재로서 사용될 수 있고, 이는 새로운 기능성 식품소재로서 국산 도라지의 부가가치 향상에 기여할 수 있을 것으로 보인다. 또한 도라지의 생리활성에 대한 정보 확보로 국산 식품 및 기능성 소재로서의 신뢰성을 제고하고 수입산 슈퍼푸드에 대응할 수 있는 기반이 강화될 수 있을 것으로 기대된다.

## 사 사

본 연구는 2019년도 농촌진흥청 시험연구사업(PJ01327901)의 연구비 지원으로 이루어졌으며 동물실험에 협조해 주신 농산물안전성부 박연기, 백민경, 유아선 박사님과 김민숙 선생님께 깊이 감사드립니다.

## 인용문헌

- Lee, H. J., Seung, Y. C. and Lee, M. S. (2018) Immune regulation effects of *Gentianae Radix* extract in LPS-induced acute inflammatory mice. *Kor. J. Herbol.* **33**: 79-84.
- Huh, S. H. (2014) Health functional food market trends and consumer survey. Korea Health Supplements Association, Korea Seongnam.
- KHSA (2016) Health functional food market trends and consumer survey, 142-144, Korea Health Supplements Association, Korea Seongnam.
- Yu, A. R., Park, H. Y., Kim, Y. S., Ha, S. K., Hong, H. D. and Choi, H. D. (2012) Immuno-enhancing effect of seed extracts on a RAW 264.7 macrophage cell line. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **41**: 1671-1676.
- Hyun, S. H., Kim, Y. S., Lee, J. W., Han, C. K., Seon, P. M. and So, S. H. (2018) Immunomodulatory effects of arginine-fructose-glucose enriched extracts of red ginseng. *J. Korea Soc. Food Sic. Nutr.* **47**: 1-6.
- Sung, N. J., Lee, S. J., Shin, J. H., Lee, J. S. and Chung, Y. H. (1996) Effects of *Platycodon grandiflorum* extract on blood glucose and lipid composition in alloxan Induced Hyperglycemic Rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **25**: 986-992.
- Chung, J. H., Shin, P. G., Ryu, J. C., Jang, D. S. and Cho, S. H. (1997) Chemical compositions of *Platycodon grandiflorus*(jacquin). *A De. Candolle Agric. Chem. Biotechnol.* **40**: 148-151.
- Shon, M. Y., Seo, J. K., Kim, H. J. and Sung, N. J. (2001) Chemical compositions and physiological activities of doraji (*Platycodon grandiflorum*). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **30**: 717-720.
- Hong, M. W. (1974) Statistical analyses of *Platycodi Radix* prescriptions. *Kor. J. Pharmacog.* **5**: 61-67.
- Konishi, T., Tada, A., Shoji, J., Kasai, R. and Tanaka, O. (1976) The structures of platycodin A and C, monoacetylated saponins of the roots of *Platycodon grandiflorum* A. DC. *Chem. Pharm. Bull.* **26**: 668-670.
- Tada, A., Kaneiwa, Y., Shoji, J. and Shibata, S. (1975) Studies on the saponins of the root of *Platycodon grandiflorum* A. D<sub>E</sub> C<sub>ANDOLLE</sub>. I. isolation and the structure of platycodin-D. *Chem. Pharm. Bull.* **23**: 2965-2969.
- Kim, S. Y., Lee, E. B. and Jeong, E. J. (2012) Anti-inflammatory components of *Platycodi Radix* butanol fractions. *J. East Asian Soc. Dietary Life* **22**: 772-781.
- Kwon, O. J., Lee, S. W., Paik, S. H., Han, S. R., Ahn, Y. M., Ahn, S. Y. and Lee, B. C. (2013) The effects of *Platycodi Radix* on obese type 2 diabetes mouse model induced by high fat, high carbohydrate diet. *J. Korean Oriental Med.* **34**: 1-14.
- Choung, M. G. and Shon, E. H. (2011) Anti-tumor activity of saponin fraction of *Platycodon grandiflorum* through immunomodulatory effects associated with NO production in RAW264.7 cells. *Korean J. Plant Res.* **24**: 557-563.
- Park, S. E., Lee, S. Y., Shin, D. Y., Jeong, J. W., Jin, M. H., Park, S. Y., Chung, Y. H., Hwang, H. J., Hong, S. H. and Choi, Y. H. (2013) Pro-apoptotic effects of platycodin D isolated from *Platycodon grandiflorum* in human leukemia Cells. *J. Life Sci.* **23**: 389-398.
- Lee, Y. S., Lee, G. H., Kwon, Y. K., Park, J. H. and Shin, S. W. (2007) Immunomodulatory effect of aqueous extracted *Zingiberis Rhizoma* on cyclophosphamide – induced immune suppression. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology* **21**: 485-490
- Lee, Y. S., Lee, G. H., Park, J. H., Kwon, Y. K. and Shin, S. W. (2007) Water extracted *Evodiae Fructus* Possesses immunomodulatory activities on cyclophosphamide induced immunosuppression. *Korean J. Physiology & Pathology* **21**: 1450-1455.
- Jeong, D. Y., Yang, H. J., Jeong, S. J., Kim, M. G., Yun, C. Y., Lee, H. Y., Lee, Y. H., Shin, D. Y., Yang, Y. G., Lee, H. S. and Park, Y. M. (2019) Immunostimulatory effects of blueberry yeast fermented powder against cyclophosphamide-induced immunosuppressed model. *J. Physiol & Pathnol. Korean Med.* **33**: 48-55.
- Kim, E. H., Gwak, J. Y. and Jung, M. J. (2018) Immunomodulatory activity of *Platycodon grandiflorum*, *Codonopsis lanceolata*, and *Adenophora triphylla* extracts in macrophage cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **47**: 1069-1075.
- Lee, S. W., Kim, K. T. and Ko H. (2011) Effects of the water extract of cultivated wild ginseng on the toxicities induced by cyclophosphamide in mice. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology* **25**: 849-856.

21. Ryu, H. S., Kim, K. O. and Kim, H. S. (2009) Effects of plant water extract *Codonopsis Lanceolatae* on mouse immune cell activation *Ex vivo*. *Korean J. Nutr.* **42**: 207-212.
22. Ryu, H. S. (2014) Effects of water extract from *Platycodon grandiflorum* on mouse immune cell activation *ex vivo* by oral administration. *Korean J. Food & Nutr.* **27**: 99-104.
23. Lee, E. B., Lee, S. H., Park, Y. G., Choi, J. H., Lee, H. K., Jang, H. H., Hwang, K. A., Choe, J. S., Park, S. Y., Choi, A. J., Hwnag, I. G., Kim, J. S., Lee, H. J., Lee, S. J. and Jeong, H. C. (2019) *Platycodon grandiflorum* extract ameliorates cyclophosphamide-induced immunosuppression in mice. *J. East Asian Soc. Dietary Life* **29**: 303-309.
24. Park, E. J., Lee, Y. S., Jeong, H. C., Lee, S. H. and Lee, H. J. (2019) Mitigation effects of red *Platycodon grandiflorum* extract on lipopolysaccharide-induced inflammation in splenocytes isolated from mice. *J. Nutr. Health* **52**: 243-249.
25. Lee, S. H., Jang, H. H., Choe, J. S., Hwang, K. A., Kim, J. B., Choi, A. J., Im, P. R., Jeon, G. M., Lee, E. B., Choi, J. H., Park, S. Y., Lee, S. J. and Jeong, H. C. (2018) 10-0162372, A composition for improving immunity comprising an effective ingredient of red balloon flower extract having improved safety and immunity improving ability.
26. Kang, B. B., Kim, C. Y., Hwang, J. S. and Choi, H. S. (2019) Non-saponin fraction of red ginseng inhibits monocyte-to-macrophage differentiation and inflammatory responses *in vitro*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **51**: 70-80.
27. Koo, S. W., Lim, M. K. and Lee, K. W. (2015) Immunomodulatory effects of *Zingiber officinale* in cyclophosphamide-induced immunosuppress mice. *J. Vet. Clin.* **32**: 56-61.
28. Kim, H. S., Chung, K. T., Lee, I. H., Choi, W. B., Lee, J. H., Hyun, S. K., Kim, B. W. and Hwang, H. J. (2014) Effect of *Alpina Officinarum* ethanol extract on immunoregulatory activities in the mice. *J. Life Sci.* **24**: 61-66.
29. Miyauchi, A., Hiramane, C., Tanaka, S. and Hojo, K. (1990) Differential effects of a single dose of cyclophosphamide on T cell subsets of the thymus and spleen in mice: flow cytometry analysis. *Tohoku J. Exp. Med.* **162**: 147-167.
30. Xun, C. Q., Thompson, J. S., Jennings, C. D., Brown, S. A. and Widmer, M. B. (1994) Effects of total body irradiation, busulfan-cyclophosphamide, or cyclophosphamide conditioning on inflammatory cytokine release and development of acute and chronic *graftversus-host* disease in H-2-incompatible transplanted SCID mice. *Blood.* **83**: 2360-2367.
31. Hyun, S. H., Kim, E. S., Lee, S. M., Kyung, J. S., Lee, S. M., Lee, J. W., Kim, M. R., Hong, J. T. and Kim, Y. S. (2014) Comparative study on immune-enhancing effects of red ginseng fractions. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **43**: 1665-673.
32. Lee, I. H., Kwon, D. H., Lee, S. H., Lee, S. D., Kim, D. W., Lee, J. H., Hyun, S. K., Kang, K. H., Kim, C. M., Kim, B. W., Hwang, H. J. and Chung, K. T. (2014) Immune-modulation effect of *Ulmus macrocarpa* hance water extract on BALB/c mice. *J. Life Sci.* **24**: 1151-1156.
33. Artym, J., Zimecki, M. and Kruzel, M. (2004) Normalization of peripheral blood cell composition by lactoferrin in cyclophosphamide-treated mice. *Med. Sci. Monit.* **10**: 84-89.
34. Chun, E. Y. (1997) Partial purification of *Houttuynia cordata* Thunb extract and characterization of its immunological activities in human. MS Thesis, Seoul National University, Korea Seoul.
35. Kim, J., Ryu, H. S., Shin, J. H. and Kim, H. S. (2005) *In vitro* and *ex vivo* supplementation of *Houttuynia cordata* extract and immunomodulation effect in mice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **34**: 167-175.
36. Wu, D., Pae, M., Ren, Z., Guo, Z., Smith, D. and Meydani, S. N. (2007) dietary supplementation with white nutton mushroom enhances natural killer cell activity in C57BL/6 mice. *J. Nutr.* **137**: 1472-1477.
37. Kim, Y. H., Kwon, H. S., Kim, D. H., Park, I. H., Park, S. J., Shin, H. K. and Kim, J. K. (2008) Immunomodulatory effects of propolis and fermented-propolis in BALB/c mice. *Korean J. Food Sci. Technol.* **40**: 574-579.
38. Vivier, E., Nunes, J. A. and Vely, F. (2004) Natural killer cell signaling pathway. *Science* **306**: 1517-1519.

(2019. 8. 22 접수; 2019. 9. 3 심사; 2019. 9. 23 게재확정)