

人蔘사포닌 분획이 단백질부족 마우스의 면역체계에 미치는 영향

李 奈 曠 · 金 榮 中

서울대학교 藥學大學

(Received June 10, 1986)

Studies on the Effects of the Saponin Fraction of Panax Ginseng on the Immune System of the Mouse Fed with Protein Malnutritive Diet

Na Gyong Lee and Young Choong Kim

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151, Korea

Abstract—The thymus weight of the mouse was 54.1% in protein malnutritive diet group and 39.2% in group treated with saponin fraction of Panax ginseng in comparison to normal diet group. This decreasing effects of protein malnutritive diet and saponin fraction on the thymus weight practically disappeared after four weeks. The saponin fraction showed no effect on the spleen weight of the mouse. The supplement of the saponin fraction enhanced total peritoneal exudate cells, content of total serum protein and albumin content of the mouse, each 45, 8 and 10% respectively in comparison to that of normal diet group. And these values in protein malnutritive diet group were 61.2, 83.6 and 87.0% respectively in comparison to that of normal diet group, and recovered to the level of normal diet group by the supplement of the saponin fraction. The electrophoregram of the serum protein of the mouse fed with protein malnutritive diet was different from that of the mouse fed with normal diet, but this difference practically disappeared by the supplement of the saponin fraction.

면역체계가 적절한 기능을 유지하려면 알맞은 영양이 필요하며, 영양부족은 면역결핍의 주요한 요인이 되기도 한다. 단백질부족시 모든 lymphoid 기관이 위축되며 특히, 세포 생산율이 가장 높은 기관중의 하나인 흉선은 가장 심하게 손상되므로¹⁾, 흉선의 기능은 오래전부터 영양상태의 척도로 여겨져 왔다. 단백질부족시 epinephrine, corticosteroid, insulin, thyroxin 등의 농도가 변화하여 T-lymphocyte에 치명적인 영향을 줄 수도 있다.²⁾ 단백질이 부족한 어린이는 phytohemagglutinin-induced lymphocyte transformation 이 상당히 손상되어 있으며³⁾, 여러 항원에 대한 delayed cutaneous hypersensitivity가 감소된다는 보고도 있다.³⁾ 단백질부족시 체액성 면역에서는 B-cell의 수와 immunoglobulin의 양의 변하지 않았다는 보고가 있으며, 여러 항원에 대한 항체 생성반응은 항원의 종류에 따라 차이가 있어

T-lymphocyte와 macrophage의 도움이 필요한 항원에 대한 항체생성만이 영향을 받는다.^{1),4)} 이 사실은 단백질부족 환자의 혈청中에는 endotoxin, 항원—항체 복합체, C-reactive protein과 같이 면역반응을 억제하는 물질들이 증가되어 있으며, 더구나 이들의 혈청에는 아직 규명되지 않은 lymphocyte의 활성화에 필요한 저분자량의 성분이 결핍되어 있다고 알려져 있다.¹⁾ 이런 모든 인자들과 더불어 complement와 transferin의 양도 감소되어 단백질부족시 감염률이 증가하게 된다.⁵⁾

우리나라의 특산인 人蔘은 약 2000년 전부터 한국, 중국, 일본 등에서 불노장생의 약으로 알려져 왔다. 최근에는 그 약효를 세계적으로 인정받기에 이르러⁶⁾ 의약품으로는 물론 건강식품으로서 널리 이용되고 있는 추세이다. 따라서 人蔘은 학자들의 관심의 대상이 되어 왔으며,

그 화학적, 생화학적 성질 및 약리학적 성질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.⁷⁻⁸⁾ 지금까지 人蔘의 약리작용에 대한 연구로 人蔘은 체내기초대사를 항진시키며⁹⁾ 중추신경계를 강화하고, stress에 대한 방어작용이 있음이 밝혀졌다.¹⁰⁾ 또한 人蔘은 피로회복¹¹⁻¹²⁾, 당질대사, 지질대사 및 혈압과 조혈작용에도 크게 영향을 미치며,⁹⁾ 세포질의 polyribosome을 증가시켜 RNA합성을 촉진시켜다고 알려졌다.¹³⁾ 人蔘의 강장효과는 이러한 다양한 효능이 복합되어 나타나는 것이라 할 수 있다. Brekhman은 강장효과를 일종의 비특이적인 저항력을 항진시키는 현상, 즉 생체가 각종 질병이나 stress 등 유해한 환경에 처했을 때 생체의 방어능력을 증진시켜서 신체를 보호할 수 있는 작용을 뜻한다고 하였다.¹⁴⁾ 이러한 강장제의 질병예방과 의약적 효과는 생체가, stress, irradiation, cancer 등 병적 상태에 있을 때 두드러지게 나타난다는 보고가 있다.

본 연구는 이러한 점에 착안하여, 실험동물을 정상식이와 단백질부족식으로 사육하면서 人蔘사포닌 분획을 경구투여하여, 人蔘사포닌 분획이 각 경우에 마우스의 면역체계에 미치는 영향을 비교하려 하였다. 먼저, T-lymphocyte의 성숙과 분화에 큰 역할을 하는 흉선과, 중요한 lymphoid 기관인 비장의 무게의 변화를 측정하였다. 다음으로, 그 조성의 대부분이 비특이적 저항력에 관계하는 많은 세포로 이루어진 복강액을 채취하여 총복강세포수를 측정함으로써, 人蔘사포닌 분획이 stem cell의 증식을 촉진하는지를 보았다. 마지막으로, 혈청의 총 단백질량과 albumin 함량을 측정하고, 혈청을 전기영동하여 혈청단백성분의 증감상태를 관찰하였다.

실험 방법

人蔘사포닌 분획의 제조—고려人蔘 4년근으로부터 Namba의 방법¹⁵⁾에 의하여 人蔘사포닌 분획을 제조하였다. 人蔘의 70% MeOH 엑기스에 증류수를 가하고 ether로 3회 추출하여 수층을 취하였다. 수층을 다시 동량의 BuOH로 추출하여 BuOH층을 취하여 BuOH을 증발시켜 조사포

닌 분획을 얻었다. 이것을 alumina column을 통과시키고 활성탄으로 처리하여 탈색시켜 정제하였다.

실험 동물—서울대학교 동물사육장에서 구입한 몸무게 20~25g의 웅성 ICR마우스를 실험에 사용하였다.

실험 식이—실험기간동안 섭취시킨 정상식은 18%의 카제인을 함유하고 단백질부족식은 5%의 카제인을 함유하도록 만들었다.¹⁶⁾

人蔘사포닌 분획의 투여—마우스를 정상식으로 2일간 적응시킨 다음, 무작위적으로 각 군 20마리 4군으로 나누고 각 2군씩을 정상식이군과 단백질부족식이군으로 분리하여 사육하였다. 각 군은 각각 대조군과 人蔘사포닌 분획 투여군으로 나누었다. 식이를 달리하여 사육한 날부터 人蔘사포닌 분획 투여군에는 人蔘사포닌 분획을 마우스당 4mg/0.2ml씩 14일간 1일 1회 위내로 경구투여하였으며, 대조군에는 탈이온수를 투여하였다. 마우스를 치사시키기 2일전 생리식염수에 2% starch 용액을 0.5ml씩 복강내주사하였다. 마우스를 ether로 마취시킨후 ophthalmic venous plexus로부터 혈액을 채취하고 cervical dislocation으로 치사시켰다.

마우스의 총 복강 세포수의 측정—마우스를 치사시킨후 즉시 복막을 노출시키고 복강내로 병병의 Hank's balanced salt solution 5ml를 주사하여 마사지해준 다음, 혈액이 적게 섞이도록 주의하며 주사기로 3ml의 복강 세척액을 뽑았다. 이 중에 존재하는 복강 세포수를 직접 hemacytometer로 세어 계산하였다.

흉선과 비장의 무게 측정—흉선과 비장을 적출하여 무게를 측정하고, 몸무게에 대한 비장 무게의 비율을 백분율로 계산하였다. 또, 마우스를 두 종류의 식이로 사육하면서 4주, 8주간 계속 人蔘사포닌 분획을 투여한후 흉선을 적출하여 무게를 측정하였다.

혈청 총 단백질과 albumin의 정량—채취한 각 군 5마리의 혈액을 합쳐 실온에서 1~2시간 방치한후 원심분리하여 혈청을 얻었다. Bovine serum albumin을 표준품으로 하여 Lowry방법¹⁷⁾에 의하여 총 혈청단백질을, Albustrate kit(영동

제약)을 이용하여 혈청 albumin을 정량하였다.

혈청 단백질의 전기영동—disc polyacrylamide gel을 이용하여 마우스 혈청을 전기영동하였다. stacking gel은 acrylamide 3%, resolving gel은 7%가 되도록 slab gel을 제조하고, 10배 희석한 마우스혈청 100 μ l에 40% sucrose 30 μ l, tracking dye로 0.3% bromophenol blue 20 μ l, stacking gel buffer 200 μ l를 가하고 잘 섞어 well당 50 μ l씩을 가하여 sample당 1.5mA로 8시간동안 전기영동하였다. 전기영동한 gel은 10% TCA 용액에서 10분간 고정시킨 다음, staining solution에 하룻동안 방치하여 gel을 염색하고 다시 destaining solution을 갈아주면서 2일간 탈색시켰다.

결과 및 고찰

人蔘사포닌 분획이 흉선과 비장의 크기에 미치는 영향—마우스를 2주간 단백질부족식으로 사육하였을 때, 정상식으로 사육한 마우스에 비하여 흉선의 크기가 54.1%로 감소하였다. 또한, 마우스를 정상식이와 단백질부족식으로 사육하면서 人蔘사포닌 분획을 투여하였을 때 각각의 대조군에 비하여 39.2%, 70.5%로 감소하였다. 그러나 마우스에 人蔘사포닌 분획을 4주, 8주동안 계속 투여한 경우에는, 정상식이나 단백질부족식으로 사육한 마우스의 흉선의 크기가 급속히 감소한 반면에 人蔘사포닌분획 투여군은 거의 변화를 나타내지 않아, 4주 이후에는 4군간에 별다른 차이를 나타내지 않았다(Fig. 1).

人蔘사포닌은 ACTH의 분비를 촉진시켜 혈장의 corticosteroid의 농도를 증가시킨다고 알려져 있고, corticosteroid는 마우스의 흉선의 피질에 있는 lymphocyte 대부분을 파괴한다는 보고가 있다.²⁾ 이러한 이유에서 정상식이와 단백질부족식으로 사육한 마우스에 人蔘사포닌 분획을 투여하였을 때 각각의 대조군에 비하여 흉선의 크기가 감소된 것이라고 본다. 그러나 steroid는 thymus의 수질에는 영향을 미치지 못한다고 알려져 있다. Thymic medullary cell은 체내의 순환 T-lymphocyte와 유사하여 corticosteroid에 저항력이 있으므로 실제의 면역능력에 있어서는

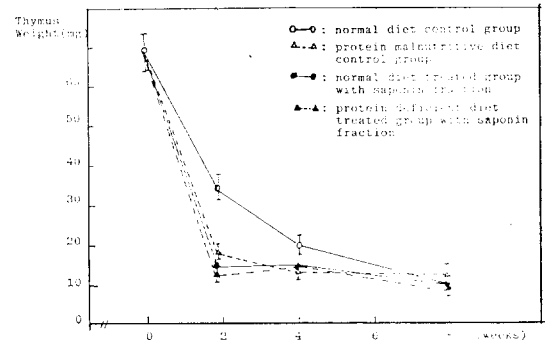


Fig. 1—Effect of Panax ginseng saponin fraction on the thymus weight.

영향을 받지 않는다. in vivo 실험에서 corticosteroid는 thymic cell의 98%를 파괴하나 나머지 2%는 전체의 면역능력을 가지고 있었다. 따라서 人蔘사포닌 분획은 흉선의 크기를 감소시키지만 흉선의 기능을 증진시킨다고 생각된다.

또한, 2주, 4주, 8주동안 정상식이와 단백질부족식으로 사육한 마우스의 흉선의 크기가 급속히 감소한 것은, age에 따라 그리고 단백질부족에 따라 흉선의 피질이 급속히 위축되었다고 생각된다. 그러나, 人蔘사포닌 분획 투여군은 분비가 촉진된 corticosteroid에 민감한 피질부분이 이미 위축되어 있기 때문에 거의 변화가 없었다고 본다.

마우스를 단백질부족식으로 사육하였을 때 정상식으로 사육한 경우에 비하여 체중이 감소하였으며 비장의 크기도 함께 감소하였다. 마우스를 정상식으로 사육하면서 人蔘사포닌 분획을 투여하였을 때나 단백질부족식으로 사육하면서 人蔘사포닌 분획을 투여하였을 때는 각각의 대조군에 비하여 비장의 크기에 별다른 차이가 없었다(Table 1).

총 복강 세포수에 미치는 영향—마우스를 단백질부족식으로 사육하였을 때, 정상식으로 사육하였을 때에 비하여 총 복강 세포수가 compaired t-test결과 유의성있게 감소하였다($p < 0.05$). 마우스를 정상식으로 사육하고 人蔘사포닌 분획을 투여하였을 때, 대조군에 비하여 총 복강 세포수가 유의성있게 증가하였으며, 단백질부족식으로 사육하였을 때에도 人蔘사포닌 분획 투여군이

Table I-Effect of Panax ginseng saponin fraction on the spleen weight.

Sample	Diet	Normal diet		Protein malnutritive diet	
		Spleen weight	*S/B ratio	Spleen weight	*S/B ratio
		mg (mean±SD)	%	mg (mean±SD)	%
Control		112.53±7.80	0.40±0.052	76.84±15.6	0.38±0.060
P. ginseng saponin fraction		111.8 ±20.6	0.46±0.091	75.44±16.6	0.39±0.122

* S/B=Spleen weight/Body weight

Table II-Effect of Panax ginseng saponin fraction on the number of peritoneal exudate cells (PEC)

Sample	Diet	Total cell (×10 ⁶)	
		Normal diet	Protein malnutritive diet
		(mean±SD)	(mean±SD)
Control (p<0.05)*		14.03±0.15	8.59±2.39
P. Ginseng saponin fraction (p<0.01)*		20.34±3.24(p<0.05)	13.11±1.92(p<0.05)**

* Significant enhancement of No. of PEC in treated group compared to that of control group

** Significant enhancement of No. of PEC in normal diet group compared to that of protein malnutritive diet group

대조군에 비하여 급격히 증가하여 정상식이 대조군의 수준까지 달하였다(Table II), 즉 人蔘사포닌 분획은 stem cell의 증식을 촉진하여 복강내 macrophage, lymphocyte, PMN 등의 수를 증가시키며 이것이 총 복강 세포수를 증가시켰다고 할 수 있다. 따라서 人蔘사포닌분획은 비특이적 면역기능을 증강시키는 강장효과가 큼을 알 수 있다.

혈청 총 단백질과 albumin 함량에 미치는 영향—人蔘사포닌분획이 마우스의 혈청 총 단백질과 albumin 함량에 미치는 영향도 총 복강 세포수에 미치는 영향과 비슷한 경향을 나타내는 것을 볼 수 있다(Table III). 단백질부족식으로 마우스를 사육한 경우 정상식으로 사육한 경우보다 혈청 총 단백질과 albumin 함량이 감소하였으며,

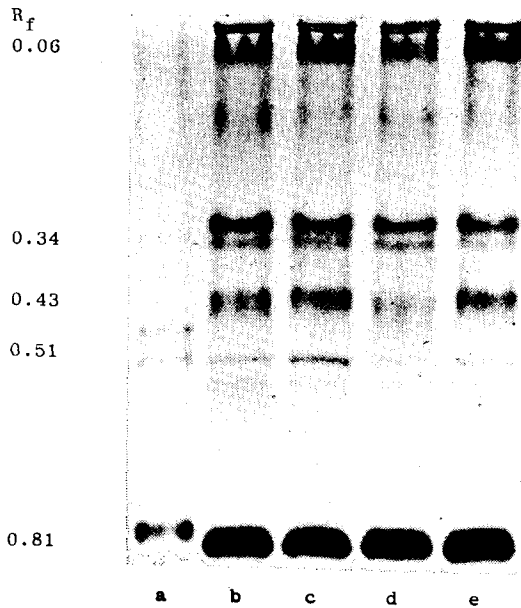
人蔘사포닌 분획을 투여하였을 때는 각각의 대조군에 비하여 증가하였는데, 이러한 효과는 단백질부족식으로 마우스를 사육하였을 때 더 뚜렷이 나타나서, 人蔘사포닌 분획의 경구투여는 단백질부족에 의한 혈청 총 단백질과 albumin 함량의 감소를 회복시켜 오히려 정상식이만으로 사육한 마우스에서보다 높았다.

혈청 단백질의 전기영동 pattern에 미치는 영향—정상식이와 단백질부족식으로 사육한 마우스의 혈청 단백질의 전기영동 pattern을 비교하여 보면, 단백질부족식이군에서는 Rf치가 0.34인 band는 정상식이군에 비하여 함량이 적었으나, Rf 0.51인 band는 증가하였다(Fig. 2). Rf 0.34인 band는 정상식이군에 人蔘사포닌 분획을 투여하였을 때 정상식이 대조군과 함량이 같았으나,

Table III-Effect of panax ginseng saponin fraction on the contents of total serum protein and albumin. (g/dl)

Sample	Diet	Normal diet			Protein malnutritive diet		
		Total protein	Albumin	Globulin*	Total protein	Albumin	Globulin*
		Control	5.84	3.10	2.74	4.88	2.70
P. ginseng saponin fraction		6.27	3.38	2.89	6.02	3.30	2.72

* Globulin=Total serum protein-Albumin



- a. bovine serum albumin
 b. normal diet control group
 c. protein malnutritive diet control group
 d. normal diet treated group with saponin fraction
 e. protein malnutritive diet treated group with saponin fraction

Fig. 2—Polyacrylamide gel electrophoresis pattern of serum from mice supplemented with *P. ginseng* saponin fraction.

단백부족식이군에 人蔘사포닌 분획을 투여하였을 때는 그 대조군보다 증가하여 정상식이 대조군과 비슷하였다. Rf 0.51인 band는 정상식이군에 人蔘사포닌 분획을 투여하였을 경우 정상식이 대조군과 비슷하였으나, 단백질부족식이군에 人蔘사포닌 분획을 투여하였을 때는 그 대조군보다 함량이 감소하였다.

생체의 병적상태가 어떠한지 정상상태로 회복시키는 것이 강장작용이라는 것을 고려하면, 이와 같이 단백질부족식으로 사육한 마우스에 人蔘사포닌 분획을 투여하였을 때, 총 복강 세포수, 혈청 단백질, albumin 함량을 뚜렷이 증가시켜 정상식이만으로 사육한 마우스의 수준에까지 올려놓고, 혈청 단백질의 전기영동 pattern을 정상식이 대조군과 비슷하게 회복시킨 것은 주목할만한 일이라 하겠다.

단백부족식으로 사육한 마우스의 면역능력이 저하되는 것과 다른 여러 보고를 고려해 볼 때, Rf 0.34인 band에 나타난 단백질이 면역능력을 상승시키는 작용이 있고 Rf 0.51에 나타난 단백질은 면역능력 억제작용이 있다고 사료되나, 단순한 전기영동 pattern만으로는 각 혈청 단백질의 기능을 알 수 없으므로, 각각의 band를 분리하여 단백질부족과 人蔘사포닌 분획의 투여에 의하여, 함량의 변화가 생기는 혈청단백질을 동정하고, 그 성분들이 생체의 면역능력에 어떠한 영향을 미치는지에 대한 연구가 계속 진행되어야 하겠다.

결 론

1) 2주간 마우스를 단백질부족식으로 사육하거나, 人蔘사포닌 분획을 투여하였을 때 흉선의 크기가 감소하였으나, 4주이상 계속 사육, 또는 투여하였을 때는 흉선의 크기가 정상식이 대조군과 별다른 차이를 나타내지 않았다.

2) 단백질부족식으로 사육한 마우스는 정상식으로 사육한 마우스에 비하여, 총 복강 세포수, 총 혈청 단백질, albumin 함량이 감소하였고, 人蔘사포닌 분획은 정상식기와 단백질부족식으로 사육하였을 때 총 복강 세포수, 총 혈청 단백질, albumin 함량을 모두 증가시켰다.

3) 마우스를 단백질부족식으로 사육하거나 人蔘사포닌 분획을 투여하였을 때, 혈청단백질의 전기영동 pattern의 변화를 관찰할 수 있었다.

문 헌

- 1) Symthe P.M., Schonland M., Brereton G.G., Coovadia H.M., Grace H.J., Lorening W.E.K., Mafoyan A. and Parent M.A.: Thymolymphatic Deficiency and Depression of Cell-Mediated Immunity in Protein-Calorie Malnutrition. *Lancet* **2**, 939 (1971).
- 2) Claman, H.N.: Corticosteroids and Lymphoid Cells, *N. Eng. J. Med.* **287**, 388 (1972).
- 3) Edelman R., Susking R., Olson R.E. and Sirisinha

- S.: Mechanisms of Defective Delayed Cutaneous Hypersensitivity in Children with Protein-Calorie Malnutrition. *Lancet* **1**, 506 (1973).
- 4) Stite D.P., Stobe J.D., Fundenberg H.H. and Wells J.V.: *Basic and Clinical Immunology*. pp. 289 (1982).
- 5) Gross R.L.: Role of Nutrition in Immunologic Function. *Physiol. Rev.* **60**, 188 (1980).
- 6) Popov I.M. and Coldwag W.J.: *Korean Ginseng Studies*. Ilwha Co. LTD, Seoul Korea, pp.328 (1977).
- 7) Kim J.Y. and Staba E.J.: *ibid.* pp.1.
- 8) Han B.H. and Woo L.K.: *ibid.* pp.22.
- 9) Yokozawa T., Semo H. and Oura H.: Effect of Ginseng Extract on Lipid and Sugar Metabolism I. Metabolic Correlation between Liver and Adipose Tissue. *Chem. Pharm. Bull.* **23**, 3095 (1975).
- 10) Korean Ginseng Research Institute: *Korean Ginseng*. pp.116 (1978).
- 11) Saito H., Yoshida Y. and Takagi K.: Effect of Panax ginseng Root on Exhaustive Exercise in Mice. *Japan. J. Pharm.* **24**, 119 (1974).
- 12) Korean Ginseng Research Institute: *Korean Ginseng*, pp.173 (1978).
- 13) Oura H., Nakashima S. and Tsukada K.: Effect of Panax ginseng Extract on Serum Protein Synthesis. *Chem. Pharm. Bull.* **20**, 980 (1972).
- 14) Brekham and Dardymov I.V., New Substances of Plant Origin Which Increase Nonspecific Resistance. *Ann. Rev. Pharm.* **9**, 419 (1969).
- 15) Namba T., Yoshizuki M., Tomimori T., Kobach K., Mitsui K. and Hase J.: Chemical and Biochemical Evaluation of Ginseng and Related Crude Drugs. *Yakukaku Zasshi*, **94**, 252 (1974).
- 16) Kee K.: Effect of Dietary Protein Restriction and Repletion on the Growth in Rats. *Masters thesis, Iwha Woman's University*, pp.13 (1980).
- 17) Lowry O.H., Resebrough N.J., Farr A.L. and Rondall R.J.: Protein Measurement with the Folinphenol Reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265 (1951).