

고려인삼에 의한 신경면역 및 염증반응 조절: 백삼사포닌에 의한 교세포에서의 TNF- α , IL-1 β 및 NO 생성 증가

성정훈 · 최동희 · 김동훈 · 전보권 · 최상현[#]

고려대학교 의과대학 약리학교실

(2004년 2월 26일 접수, 2004년 5월 22일 수리)

White Ginseng Saponin Upregulated the Production of TNF- α , IL-1 β , and NO in Primary Cultures of Mixed Glial Cells

Jung-Hoon Sung, Dong-Hee Choi, Dong-Hoon Kim, Boe-Gwun Chun and Sang-Hyun Cho[#]

Department of Pharmacology, Korea University College of Medicine

(Received February 26, 2004, Accepted May 22, 2004)

Abstract : Glial cells such as astrocytes and microglial cells are the main source of proinflammatory cytokines and nitric oxide(NO) in the central nervous system, which exert neuroimmune and inflammatory functions and other various neurobiologic effects. Though Panax ginseng C.A. Meyer has been known to strengthen the body's defence mechanisms and also to maintain the homeostasis in the central nervous system, the effects of Panax ginseng on the production of immune and inflammatory mediators have not been studied well in the brain. Therefore, this study was designed to study the effects of ginseng saponins on the production of proinflammatory cytokines and NO in the primary cultures of mixed glial cells. White ginseng saponin, 200-500 μ g/ml, showed significant cytotoxicity after 72 hrs and increased TNF- α , IL- β , and NO production. Lower doses of 50-100 μ g/ml showed little cytotoxicity until 72 hrs and also increased the production of TNF- α , IL-1 β , and NO. Triple immune staining showed that white ginseng saponin, 200 μ g/ml for 72 hrs, induced stellation of astrocytes and iNOS expression exclusively in microglial cells. Taken together, the white ginseng saponin increased the production of proinflammatory cytokines such as TNF- α and IL-1 β , and induced iNOS expression and NO production in mixed glial cell cultures, which may be ascribed to the enhancement of central immune responses and the regulation of inflammatory reactions by Panax ginseng.

Key words : white ginseng saponin, astrocytes, microglial cells, TNF- α , IL-1 β , nitric oxide

서 론

뇌 실질은 신경세포 (neuron) 이외에 성상세포 (astrocyte) 와 미세교세포(microglial cell) 등 교세포(glial cell)로 이루어 져 있으며, 성상세포는 신경세포 활성조절 물질들을 생산하며 이들의 autocrine 및 paracrine 작용을 통해 중추신경계 면역 및 염증반응에도 관여하는 것으로 알려져 있다.¹⁾ 한편, 미세교세포는 중추신경계의 핵심적인 면역 및 염증세포로서, 뇌 조직의 정상적인 세포환경에서는 활성이 억제되어 있으나, 손상,

감염, 염증 등에 의해 급격히 활성화되어 질환의 진행 또는 치유에 관여하는 것으로 알려져 있다.²⁾ 이들 교세포는 중추신경계 세포활성물질의 원천으로서, 특히 lipopolysaccharide (LPS) 등의 자극에 의하여 tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β) 등의 염증성 cytokine들을 생성하며,^{3,4)} 이들은 다시 주위의 활성화된 교세포들을 더욱 활성화하여 nitric oxide(NO) 등을 대량 생성하도록 한다.^{5,6)} 이같이 생성된 염증성 cytokine들과 NO는 면역 및 염증반응에서 핵심역할을 한다.

고려인삼(Panax ginseng C.A. Meyer; Araliaceae)은 원기를 회복시키고 피로와 스트레스에 대한 저항력을 증가시키는 효과를 나타내어, 수천 년 동안 한국과 중국, 일본 등지에서

[#]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 02-920-6289; (팩스) 02-927-0824
(E-mail) shchoi@korea.ac.kr

전통적 약제로 사용되었다.⁷⁾ 최근의 많은 논문들은 인삼이 기억, 학습, 행동 등 중추신경계 기능, 신경내분비 기능, 당과 지질 대사, 면역기능, 그리고 심혈관계 기능에 다양한 효과를 나타내는 것으로 보고하고 있다.⁸⁾ 고려인삼이 인체의 항상성을 유지하고 면역기능을 강화하는 우수한 약리효과를 나타내는 것으로 알려져 있으나, 중추신경계의 면역기능 또는 염증반응에 대한 영향에 대해서는 연구가 미진한 상황이다.

따라서 본 연구에서는 고려인삼의 약리효과 중 신경 면역 및 염증반응의 조절효과에 대하여 연구하고자 하였으며, 이를 위하여 흰쥐 대뇌피질의 교세포를 일차배양하고 고려인삼 사포닌 성분을 처리하여 TNF- α , IL-1 β , interferon- γ (IFN- γ) 등 염증성 cytokine들과 NO의 생성변동을 연구하였다.

재료 및 방법

1. 고려인삼 사포닌 분획

KT&G 중앙연구원이 제조한 홍삼 조사포닌과 백삼 조사포닌을 고려인삼학회를 통하여 제공받아 사용하였다.

2. 혼합교세포 (mixed glial cell)의 일차배양 및 약물처리

McCarthy와 de Vellis⁹⁾의 방법 및 Giulian과 Baker¹⁰⁾의 방법을 응용하여 배양하였다. 생후 2일 이내의 흰쥐(Sprague-Dawley)의 대뇌피질 부위를 얻어서 차가운 phosphate 완충 소염수(PBS) 중에서 뇌막과 혈관을 제거하였다. 이들 대뇌피질을 mesh에 통과시켜 해체하여 DMEM(10% FBS 및 100 IU/ml-100 µg/ml penicillin-streptomycin 포함) 중에 부두시켜서 씻어내고 다시 새로운 배지 중에 부유시킨 후, 이들 세포들을 trypan blue로 염색하고 세포수를 헤아린 다음, 37°C에서 CO₂ 5%를 포함하는 습기 중에서 배양하였다. 24시간 후에 배지를 교환하고, 이후 3일마다 배지를 교환하였다. 배양세포가 밀집상태에 이르면, glial fibrillary acidic protein(GFAP)와 lectin(GSI-B₄)에 대한 면역반응성을 검사하여 성상세포와 미세교세포의 존재를 확인하였다.

밀집상태의 혼합교세포에 홍삼사포닌과 백삼사포닌 또는 LPS 1 µg/ml를 처리한 후, 24시간 또는 72시간 후에 다음 실험들을 수행하였다.

3. 세포독성 측정

인삼 성분들의 세포독성을 세포로부터 배양배지 중으로 유리된 lactate dehydrogenase(LDH)의 활성을 측정하여 정량하였다. 배지 중의 LDH 활성을 배양세포 전체로부터 유리된 LDH 활성과 비교하여, 배양세포 중 손상되거나 사멸된 세포의 비율을 결정하였다.

배양배지 일정량을 얻어서 동량의 LDH 기질용액(Promega)과 30분 동안 반응시킨 후 1/2 용량의 1 M acetic acid를 가하여 반응을 정지시키고, 반응액의 492 nm 흡광도를 측정하였다. 이같이 배지 중에 유리된 LDH 활성을 측정한 후, 동일한 배양세포에 10% Triton X-100 1/100 용량을 처리하고 30분 동안 세포배양기에 보관하여 모든 배양세포로부터 LDH 유리를 유도하고, 이 배양배지 중의 LDH 활성을 측정하여 총 LDH 활성을 정하였다.

4. ELISA 방법에 의한 TNF- α , IL-1 β , 및 IFN- γ 의 유리 분석

각 실험군의 배양액을 50 µl 이상씩 얻어서 -70°C에 보관하고, 이 배양액(1~3배 희석) 중에 유리된 각 cytokine을 rat TNF- α , IL-1 β , 및 IFN- γ 에 대한 ELISA kit(R&D)를 이용하여 측정하였다.

5. NO 유리 측정

배지 중으로 유리된 NO를 Griess 반응으로 정량하였다. 약물 처리된 혼합교세포의 배양배지를 얻어서 동량의 Griess 시약(1% sulfanilamide, 0.1% N-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride, 2.5% phosphoric acid)과 실온에서 10분 동안 반응시킨 다음, 반응액의 520 nm 흡광도를 측정하였다. 배지 중의 NO 농도는 NaNO₂의 표준농도직선으로부터 구하였으며, LPS에 의한 농도 증가를 기준으로 표시하였다.

6. GFAP, GSI-B₄, 및 iNOS에 대한 삼중면역염색

Chamber-slide (Nunc)에 배양한 각 실험군의 세포를 PBS로 씻어낸 다음 4% formaldehyde-PBS 용액(pH 7.4) 중에서 10분간(이하 모두 실온반응) 고정하였다. 고정된 세포를 씻어낸 후 blocking 용액(1% bovine serum albumin과 0.1% Triton X-100이 포함된 PBS) 중에 15분 동안 두었다. Block 된 세포에 rabbit anti-GFAP 항체(Dako)와 mouse anti-iNOS 항체(Transduction Lab.)의 희석용액을 가하여 반응시켰다. 한 시간 후 anti-mouse IgG-AMCA(Vector)와 anti-rabbit IgG-Texas red(Vector)의 형광 이차항체를 동시에 가하고 30분간 반응시킨 다음, 마지막으로 GSI-B₄-FITC(Sigma)와 30분간 반응시켰다.

7. 통계처리

실험결과는 mean±S.E.로 표시하였으며, one-way analysis of variance와 Student's t-test를 이용하여 분석하였다.

결과 및 고찰

홍삼 및 백삼 사포닌 분획들의 일차배양 교세포에 대한 세포독성을 측정한 결과(Fig. 1), 50-500 µg/ml의 백삼사포닌을 24시간 동안 처치한 경우 LDH 유리는 대조군(총 LDH 유리의 10.0%) 보다 최대 5.8% 더 증가되었다. 백삼사포닌 50 µg/ml, 100 µg/ml을 72시간 처치한 경우, 대조군(14.7%) 보다 6.9%, 8.0% 더 증가된 반면, 200-500 µg/ml에 의해 41.2-58.8%의 LDH를 유리하였다. 홍삼사포닌을 24시간 처치한 경우, 50 µg/ml, 100 µg/ml에 의해 LDH 유리가 대조군(10.4%)보다 4.8%, 9.1% 더 증가되었으며, 200-500 µg/ml에 의해서는 43.1-65.6%의 LDH 유리를 초래하였다. 이 같은 결과에 의하면, 100 µg/ml 이하 용량의 홍삼사포닌과 백삼사포닌은 유의한 세포독성을 나타내지 않았다. 200 µg/ml 이상의 사포닌은 세포독성을 나타내기 시작하여, 홍삼사포닌은 24시간 내에, 백삼사포닌은 72시간 후에 LDH 유리를 유의하게 증가시켰다. 홍삼사포닌에 비하여 백삼사포닌이 시간적으로 완만한 세포독성을 나타내었으므로, 이후의 실험에서 주로 백삼사포닌을 사용하였다.

일차배양 상태의 정상 혼합교세포는 외부자극 없이 TNF- α 와 IL-1 β 를 생성 유리하였으며, 그 배양액 중에서 IFN- γ 과 NO는 검출되지 않았다. 백삼사포닌 50-500 µg/ml를 72시간 처치한 혼합교세포에서 TNF- α 와 IL-1 β 생성이 증가되었으며

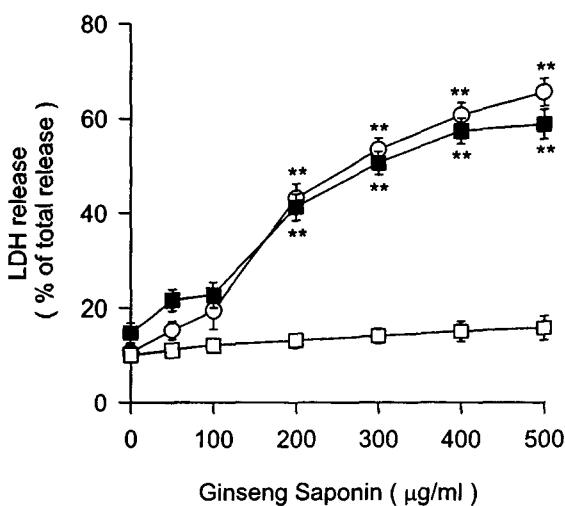


Fig. 1. Effects of red ginseng saponin and white ginseng saponin on the LDH release in mixed glial cell cultures. Mixed glial cells were treated with red ginseng saponin for 24 hrs (○) and white ginseng saponin for 24 hrs (□) or 72 hrs (■) in serum-free culture media. The released LDH activity was compared with the total activity of a Triton-lysed cell culture(mean±S.E., n=5). *and **represent significant differences of P<0.05 and P<0.01, respectively, compared with the control PBS-treated cultures.

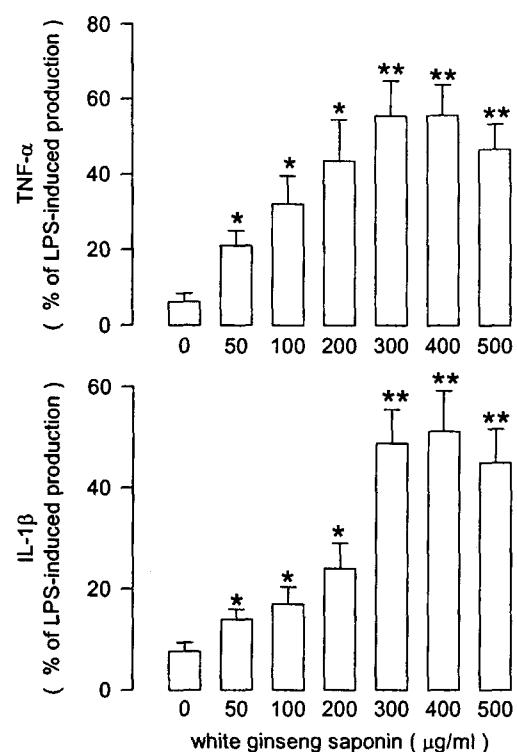


Fig. 2. Effect of white ginseng saponin on the production of TNF- α , IL-1 β , and IFN- γ in mixed glial cell cultures. Mixed glial cells were treated with white ginseng saponin or LPS(1 µg/ml) for 72 hrs in serum-free culture media. The production of TNF- α and IL-1 β was compared with the LPS-induced production(mean±S.E., n=5). * and ** represent significant differences of P<0.05 and P<0.01, respectively, compared with the control PBS-treated cultures. IFN- γ was detected neither in control nor in treated cultures.

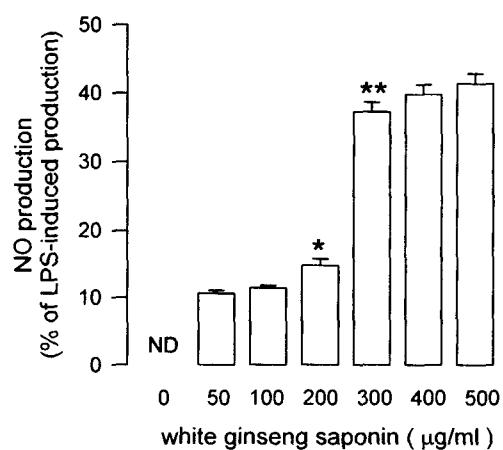


Fig. 3. Effect of white ginseng saponin on the production of NO in mixed glial cell cultures. Mixed glial cells were treated with white ginseng saponin or LPS (1 µg/ml) for 72 hrs in serum-free culture media. The NO production was compared with the LPS-induced production(mean±S.E., n=5). *and **represent significant differences of P<0.05 and P<0.01, respectively, compared with each preceding dose. ND, Nondetectable.

(Fig. 2), NO 생성이 유도되었다(Fig. 3). 특히 세포독성을 거의 나타내지 않는 200 µg/ml 이하의 백삼사포닌에 의해서도 TNF- α 와 IL-1 β 생성이 증가되었으며, NO 생성이 유도되었다. 200 µg/ml 및 그 이하 용량의 홍삼사포닌은 TNF- α , IL-1 β , 및 NO 생성에 영향을 주지 못하였으며, 홍삼사포닌, 백삼사포닌 또는 LPS 처치 혼합교세포의 배양액 중에서 IFN- γ 는 검출되지 않았다(data not shown).

TNF- α 와 IL-1 β 는 대표적인 염증성 cytokine들로서, 중추신경계에서는 면역 또는 염증 자극에 의하여 활성화된 미세교세포로부터 생성 유리되어 주위의 미세교세포들을 더욱 활성화시키고 NO를 생성하게 하는 매개물질로 알려져 있다.³⁻⁶⁾

세포독성을 거의 나타내지 않는 50-100 µg/ml의 백삼사포닌이 TNF- α 와 IL-1 β 의 생성을 증가시켜, 강력한 염증반응 유발물질인 LPS(1 µg/ml)에 의한 생성의 6.2% (TNF- α) 및 7.6%(IL-1 β)로부터 21-32%(TNF- α) 및 14-17%(IL-1 β)로 각각 증가시켰고, LPS에 의한 NO 생성의 10.6-11.4%까지 NO 생성을 유도하였다. 따라서 세포독성이 거의 없는 적정량의 백삼사포닌이 미세교세포를 활성화하며, 그 활성 정도가 LPS 등 병적인 염증자극에 비하여 적으로, 중추신경계의 면역력과 염증반응을 항상성을 유지하는 범위에서 상승적으로 조절할 수 있는 것으로 생각된다.

위와 같은 백삼사포닌의 교세포 활성효과를 성상세포의 세

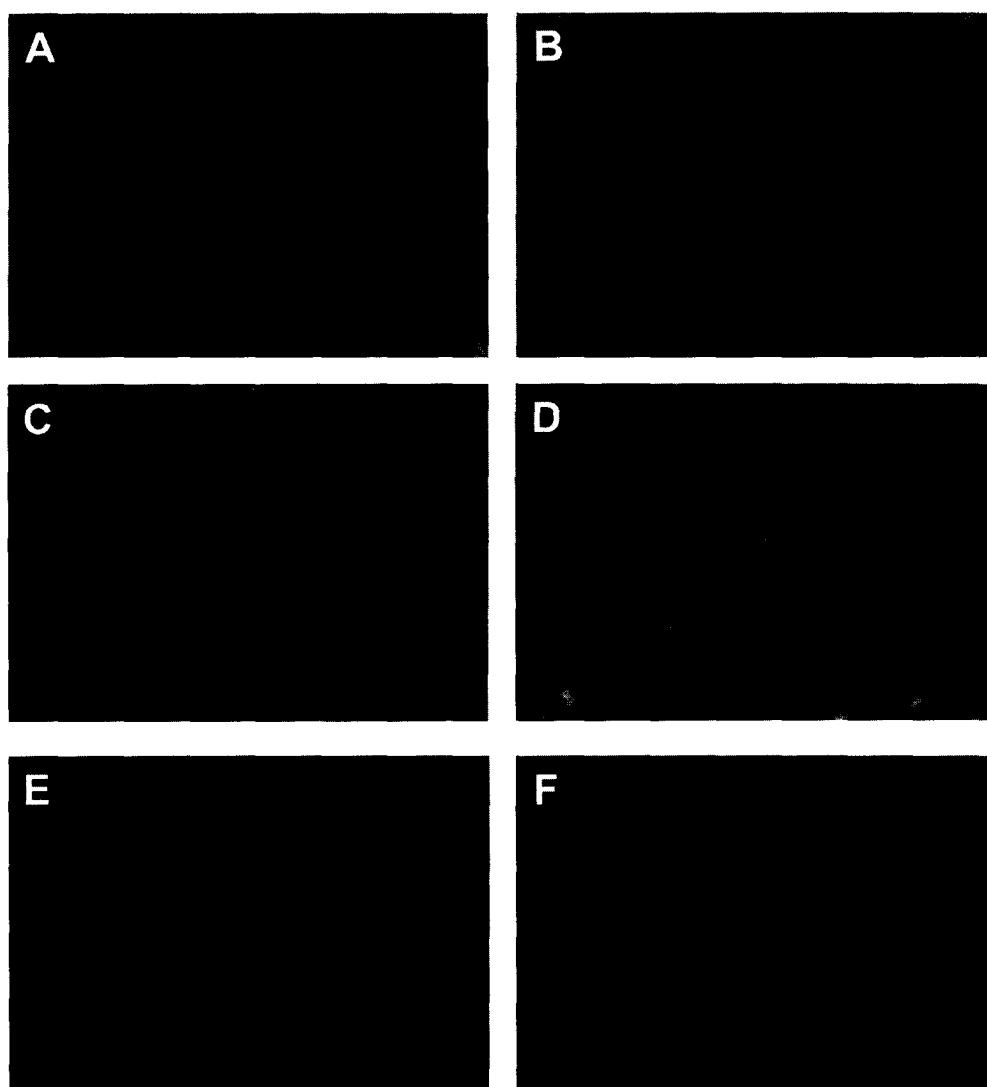


Fig. 4. Effect of white ginseng saponin on the localization and expression of iNOS in mixed astrocyte and microglial cell cultures. Mixed glial cells were treated with PBS (A, C, E) or white ginseng saponin (200 µg/ml, for 72 hrs) (B, D, F). Cultures were triple-labeled with anti-GFAP-Texas red (red; A, B), GSI-B₄-FITC (green; C, D), and anti-iNOS-AMCA (blue; E, F). The same field was photographed through three different filter combinations, at a magnification of $\times 200$. Micrographs shown are representative of four independent experiments.

포골격 단백질 표지(GFAP), 미세교세포의 lectin 표지 및 iNOS에 대한 삼중면역염색 방법으로 확인하였다(Fig. 4). 백삼사포닌 처치(200 µg/ml, 72시간)는 성상세포의 현저한 stellation을 유발하였다. 혼합교세포 상태로 배양 중인 정상 성상세포는 편평한 polygonal 형태를 유지하였으나, 백삼사포닌 처치 후 대부분의 성상세포에서 세포체가 작아지고 다수의 가늘고 긴 세포돌기들이 형성되었다. 정상 뇌 조직에서, 성상세포는 주로 신경세포로부터의 자극에 의해 stellate 형태를 유지하며, 긴 돌기들을 이용하여 신경세포 또는 뇌혈관 등을 감싸면서 신호를 주고받는 것으로 알려져 있다.¹¹⁾ 배양상태의 성상세포도 신경세포나 혈관내피세포와의 동시배양에 의해 stellate 형태를 갖게 된다.^{12, 13)} 이같이 긴 돌기를 내는 stellate 형태의 성상세포는 신경세포의 이동과 axon의 성장을 도우며 blood-brain barrier를 구축하게 된다.^{14, 15)} 이외에 cAMP의 증가, 세포외액 조성의 변동, 허혈, 저산소 등 병적 환경에 노출되는 경우 성상세포의 반응성 증가(reactive astrocytosis)에 수반하여 성상세포의 stellation이 초래되며, 신경퇴행질환 시에도 stellation이 관찰된다.¹⁶⁻¹⁹⁾ 아울러 성상세포의 stellation은 새로운 단백질 합성을 필요로 하므로,²⁰⁾ 세포 swelling, 세포막 blebbing, 세포내 vacuole 형성 등 세포사에 선행하는 비특이적 현상일 가능성은 적은 것으로 생각된다. 이같이 성상세포의 stellation이 정상상태 또는 병적상태를 막론하고 성상세포의 활성증가에 수반되는 현상이므로, 백삼사포닌을 처치한 성상세포의 stellation은 백삼사포닌의 직접 효과 또는 성상세포 자체나 미세교세포로부터의 유리물질에 의한 간접효과에 의해 초래된 성상세포의 활성화 증거로 생각된다.

한편 미세교세포의 경우, lectin의 발현은 백삼사포닌에 의하여 변동되지 않았다. 아울러 정상 혼합교세포에서 발현되지 않았던 iNOS가 백삼사포닌 처치 후 뚜렷하게 발현되었고, 특히 iNOS의 분포가 미세교세포의 분포와 일치하였다. 이 결과는 iNOS가 성상세포에서는 발현되지 않고 미세교세포에서만 발현된다는 보고들과 일치한다.^{21, 22)} 따라서 백삼사포닌에 의한 NO 생성은 미세교세포의 활성화에서 비롯되며 성상세포는 NO 생성과는 무관한 것으로 생각된다.

고려인삼 특히 인삼사포닌 또는 사포닌의 활성성분인 ginsenoside들은 NO 생성을 증가시킴으로써 중추신경계 기능(기억, 학습, 행동), 신경내분비 기능, 탄수화물과 지질의 대사, 면역 기능, 및 심혈관계 기능에 현저한 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 고려인삼은 NO 생성을 촉진하고 심장, 폐, 신장 등 주요 장기에 대하여 항산화작용과 장기보호효과를 나타낸다.⁸⁾ 즉, 고려인삼의 사포닌 성분 중 ginsenoside Rg₃ 등은 각종 혈관의 내피세포의 증식과 세포활성을 증가시키며, 특히 내피세포에

서의 NO 생성을 촉진한다. 생성된 NO는 혈관 등의 평활근을 이완시키며 항산화효과를 나타내어 조직과 장기를 보호한다.²³⁻²⁵⁾ 고려인삼의 ginsenoside 성분은 내피세포로부터 항산화작용을 갖는 NO 생성을 증가시킴으로써 허혈·재관류 등에 의한 심혈관계의 손상을 억제하며,²⁶⁾ 조 사포닌 (crude saponin)도 혈관내피세포에서의 NO 생성 증가, 혈압저하, 및 서맥을 초래한다.²⁷⁾ Ginsenoside는 폐의 혈관내피세포에서 NO 생성을 증가시킴으로써 폐혈관을 확장시키며 폐의 손상을 억제한다.²⁸⁾ Ginsenoside는 신장조직에서 NO 생성을 증가시킴으로써 신장보호효과를 나타낸다.²⁹⁾

또한 고려인삼은 NO 생성을 촉진하여 뇌조직을 보호한다. 고려인삼의 ginsenoside 성분 특히 ginseng 총 사포닌 (total saponin), 20(S)-Rg₃, Rc는 중추신경계 특히 뇌혈관의 내피세포에서 NO 생성을 촉진하여 항스트레스효과를 나타낸다.³⁰⁾ Ginsenoside Rb₁, Rg₃ 성분은 glutamate의 신경세포 독성에 수반하는 NO 생성을 억제하여, glutamate에 의한 신경세포의 손상을 억제한다.³¹⁾ Ginsenoside는 뇌혈관 내피세포에서 NO 생성을 촉진하여 뇌혈관을 확장시킴으로써 허혈성 뇌손상을 억제한다.³²⁾

한편 고려인삼의 ginsenoside 성분은 macrophage의 NO 생성에 영향을 미친다. Ginsenoside Rg₁ 성분은 IFN-γ에 의해 활성화된 복강내 macrophage 또는 macrophage 세포주 (RAW264-7)의 NO 생성을 증강시킨다.³³⁾ 그러나, ginsenoside Rh₁과 Rh₂ 성분은 복강내 macrophage에서 LPS와 IFN-γ에 의한 NO 생성을 억제한다.³⁴⁾

이상의 연구들에 의하면, 이미 잘 알려져 있는 고려인삼의 뇌, 심장, 폐, 신장 등 주요장기 보호효과가 이들 장기, 특히 내피세포에서의 고려인삼 saponin 즉 ginsenoside 성분에 의한 NO 생성 촉진효과와 밀접한 관련이 있는 것으로 생각된다. 이때 NO는 항산화효과와 혈관이완효과를 나타낸다. 몇 가지 ginsenoside 성분들은 중추신경계에서 NO 생성을 조절하여, 항스트레스효과 또는 신경세포 보호효과를 나타내며, 말초의 macrophage에서의 LPS와 염증성 cytokine 자극에 의한 NO 생성을 촉진적으로 조절한다. 즉, 다수의 연구결과들이 고려인삼 특히 ginsenoside 성분들에 의한 내피세포 및 macrophage에서의 NO 생성 촉진을 보고하였으나, 중추신경계에서 가장 중요한 NO의 생성원으로 알려져 있는 미세교세포에서의 NO 생성에 대한 고려인삼의 효과에 대해서는 아직 밝혀진 바가 없는 상황이다.

고려인삼 특히 polysaccharide 성분들은 각종 cytokine의 발현 및 생성을 변동시킴으로써, 인체의 면역능력을 조절한다. 즉, 고려인삼의 acidic polysaccharide 성분(ginsan)은 T 임파구, B 임파구 등을 포함한 각종 면역세포에서 IL-2, IFN-γ,

IL-1 β , GM-CSF 등 다수의 cytokine의 발현을 증가시킴으로써 이를 면역세포들을 활성화시키며, 이같은 면역증강효과를 통해 항암효과를 나타낸다.^{35,36)} Acidic polysaccharide 성분 중 ginsenan S-IIA는 monocyte 세포주에서 IL-8 생성을 유도한다.³⁷⁾ 고려인삼의 에탄올-침전성분은 IL-2 생성을 촉진하여 splenocyte의 증식과 분화를 유도한다.³⁸⁾

고려인삼 특히 acidic polysaccharide 성분들은 말초의 면역 세포(T 임파구, B 임파구, monocyte-macrophage)에서 염증성 cytokine들의 발현 · 생성을 촉진하여, 이를 면역세포의 증식과 분화를 유도하여 인체 면역능력을 증강시킨다. 이같이 다수의 연구결과가 고려인삼의 cytokine 생성 촉진효과를 통한 말초 면역능력의 증강에 대하여 보고하고 있으나, 고려인삼이 중추신경계에서 가장 중요한 cytokine의 기원인 교세포에서의 cytokine의 생성에 미치는 영향에 대한 연구는 전무한 상황이다.

고려인삼의 다양한 성분이 여러 장기에서 NO 생성을 자극하여 각 장기의 항상성 유지에 기여하고 말초의 면역 및 염증반응을 조절한다는 보고들에 더하여, 중추신경 교세포를 대상으로 수행한 본 연구에서, 고려인삼의 백삼사포닌 분획이 미세교세포를 적절하게 활성화시켜 중추신경계 면역력을 증가시키고 염증반응을 조절하는 효과를 나타내며, 이를 통해 중추신경계 항상성 유지에 기여하리라는 결과를 얻었다.

요 약

수천 년 동안 전통적 약제로 사용되어온 고려인삼은 중추신경계의 항상성을 유지하고 면역기능을 강화하는 효능을 나타내는 것으로 알려져 있다. 신경계질환의 진행이 대부분 염증 또는 면역반응을 수반하며, 이로 인하여 손상된 신경세포의 수복과정에 교세포 기원의 매개물질들이 기여하므로, 교세포에서의 cytokine 및 NO 생성에 대한 연구는 신경기능과 신경면역기능의 조절 뿐 아니라 신경계 질환에 대한 연구의 초석이라고 할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 고려인삼의 신경면역 및 염증반응 조절효과에 대하여 연구하고자 하였으며, 이를 위하여 훈취 대뇌피질의 교세포를 일차배양하며 고려인삼사포닌 분획을 처리하여 TNF- α , IL-1 β , 및 NO의 생성변동을 연구하였다. 백삼사포닌은 50-500 μ g/ml 용량에서 TNF- α 와 IL-1 β 생성을 증가시켰으며, 미세교세포에서 iNOS 발현 및 NO 생성을 유도하였고 성상세포의 stellation을 초래하였다. 특히 백삼사포닌 50-100 μ g/ml는 세포독성을 거의 나타내지 않았으므로 이를 용량에 의한 교세포의 적절한 활성화가 중추신경계 면역기능 증가 및 염증반응 조절에 기여할 것으로 생각된다.

감사의 말씀

본 연구는 2000년도 고려인삼학회의 고려인삼연구비지원에 의하여 수행되었습니다. 고려인삼학회의 지원에 진심으로 감사드립니다.

인용문헌

- Norenberg, M. D. : Immunology of the nervous system. p.173-199. Oxford University Press, New York (1997).
- Perry, V. H. and Gordon, S. : Immunology of the nervous system. p.155-172. Oxford University Press, New York (1997).
- Benveniste, E. N. : Immunology of the nervous system. p.419-459. Oxford University Press, New York (1997).
- Benveniste, E. N. : Cytokine actions in the central nervous system. *Cytokine Growth Factor Rev.* **9**, 259-275 (1998).
- Murphy, S., Simmons, M. L., Agullo, L., Garcia, A., Feinstein, D. L., Galea, E., Reis, D. J., Minc-Golomb, D. and Schwartz, J. P. : Synthesis of nitric oxide in CNS glial cells. *Trends Neurosci.* **16**, 323-328 (1993).
- Murphy, S. : Production of nitric oxide by glial cells: regulation and potential roles in the CNS. *Glia* **29**, 1-13 (2000).
- Cho, S. H., Choi, S. H., Choi, J. W., Kim, D. H., Shin, K. H., Chun, Y. S. and Chun, B. G. : Effect of Panax ginseng on latency of passive avoidance response and neuronal damage of hippocampus. *Korea J. Physiol. Pharmacol.* **1**, 345-353 (1997).
- Gillis, C. N. : Panax ginseng pharmacology: a nitric oxide link? *Biochem. Pharmacol.* **54**, 1-8 (1997).
- McCarthy, K. D. and de Vellis, J. : Preparation of separate astroglial and oligodendroglial cell cultures from rat cerebral tissue. *J. Cell Biol.* **85**, 890-902 (1980).
- Giulian, D. and Baker, T. J. : Characterization of ameboid microglia isolated from developing mammalian brain. *J. Neurosci.* **6**, 2163-2178 (1986).
- Ventura, R. and Harris, K. M. : Three-dimensional relationships between hippocampal synapses and astrocytes. *J. Neurosci.* **19**, 6897-6906 (1999).
- Gasser, U. E. and Hatten, M. E. : Neuron-glia interactions of rat hippocampal cells in vitro: glial-guided neuronal migration and neuronal regulation of glial differentiation. *J. Neurosci.* **10**, 1276-1285 (1990).
- Mi, H., Haeberle, H. and Barres, B. A. : Induction of astrocyte differentiation by endothelial cells. *J. Neurosci.* **21**, 1538-1547 (2001).
- Mason, C. A., Edmondson, J. C. and Hatten, M. E. : The extending astroglial process: development of glial cell shape, the growing tip, and interactions with neurons. *J.*

- Neurosci.* **8**, 3124-3134 (1988).
15. Janzer, R. C. and Raff, M. C. : Astrocytes induce blood-brain barrier properties in endothelial cells. *Nature* **325**, 253-257 (1987).
 16. Ramakers, G. J. A. and Moolenaar, W. H. : Regulation of astrocyte morphology by RhoA and lysophosphatidic acid. *Exp. Cell Res.* **245**, 252-262 (1998).
 17. Cechin, S. R., Gottfried, C., Prestes, C. C., Wofchuk, S. T., Andrichetti, L. and Rodnight, R. : Astrocyte stellation in saline media lacking bicarbonate: possible relation to intracellular pH and tyrosine phosphorylation. *Brain Res.* **946**, 12-23 (2002).
 18. Eng, L. F. and Ghirnikar, R. S. : GFAP and astrogliosis. *Brain Pathol.* **4**, 229-237 (1994).
 19. Norton, W. T., Aquino, D. A., Hozuni, I., Chiu, F. C. and Bro-snan, C. F. : Quantitative aspects of reactive gliosis: a review. *Neurochem. Res.* **17**, 877-885 (1992).
 20. Isobe, I., Maeno, Y., Nagao, M., Iwasa, M., Koyama, H., Seko-Nakamura, Y. and Monma-Ohtaki, J. : Cytoplasmic vacuolation in cultured rat astrocytes induced by an organophosphorus agent requires extracellular signal-regulated kinase activation. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **193**, 383-392 (2003).
 21. Possel, H., Noack, H., Putzke, J., Wolf, G. and Sies, H. : Selective upregulation of inducible nitric oxide synthase (iNOS) by lipopolysaccharide (LPS) and cytokines in microglia: in vitro and in vivo studies. *Glia* **32**, 51-59 (2000).
 22. Choi, S. H., Choi, D. H., Song, K. S., Shin, K. H. and Chun, B. G. : Zaprinast, an inhibitor of cGMP-selective phosphodiesterases, enhances the secretion of TNF-alpha and IL-1beta and the expression of iNOS and MHC class II molecules in rat microglial cells. *J. Neurosci. Res.* **67**, 411-421 (2002).
 23. Kim, N. D., Kang, S. Y., Park, J. H. and Schini-Kerth, V. B. : Ginsenoside Rg₃ mediates endothelium-dependent relaxation in response to ginsenosides in rat aorta: role of K⁺ channels. *Eur. J. Pharmacol.* **367**, 41-49 (1999).
 24. Nakajima, S., Uchiyama, Y., Yoshida, K., Mizukawa, H. and Haruki, E. : The effects of ginseng radix rubra on human vascular endothelial cells. *Am. J. Chin. Med.* **26**, 365-373 (1998).
 25. Kang, S. Y., Schini-Kerth, V. B. and Kim, N. D. : Ginsenosides of the protopanaxatriol group cause endothelium-dependent relaxation in the rat aorta. *Life Sci.* **56**, 1577-1586 (1995).
 26. Chen, X. : Cardiovascular protection by ginsenosides and their nitric oxide releasing action. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **23**, 728-732 (1996).
 27. Jeon, B. H., Kim, C. S., Kim, H. S., Park, J. B., Nam, K. Y. and Chang, S. J. : Effect of Korean red ginseng on blood pressure and nitric oxide production. *Acta. Pharmacol. Sin.* **21**, 1095-1100 (2000).
 28. Kim, H., Chen, X., Gillis, C. N. : Ginsenosides protect pulmonary vascular endothelium against free radical-induced injury. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **189**, 670-676 (1992).
 29. Han, S. W. and Kim, H. : Ginsenosides stimulate endogenous production of nitric oxide in rat kidney. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **28**, 573-580 (1996).
 30. Kim, D. H., Jung, J. S., Suh, H. W., Huh, S. O., Min, S. K., Son, B. K., Park, J. H., Kim, N. D., Kim, Y. H. and Song, D. K. : Inhibition of stress-induced plasma corticosterone levels by ginsenosides in mice: involvement of nitric oxide. *Neuroreport* **9**, 2261-2264 (1998).
 31. Kim, Y. C., Kim, S. R., Markelonis, G. J. and Oh, T. H. : Ginsenosides Rb₁ and Rg₃ protect cultured rat cortical cells from glutamate-induced neurodegeneration. *J. Neurosci. Res.* **53**, 426-432 (1998).
 32. Chen, X., Salwinski, S. and Lee, T. J. : Extracts of Ginkgo biloba and ginsenosides exert cerebral vasorelaxation via a nitric oxide pathway. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **24**, 958-959 (1997).
 33. Fan, Z. H., Isobe, K., Kiuchi, K. and Nakashima, I. : Enhancement of nitric oxide production from activated macrophages by a purified form of ginsenoside (Rg₁). *Am. J. Chin. Med.* **23**, 279-287 (1995).
 34. Park, Y. C., Lee, C. H., Kang, H. S., Kim, K. W., Chung, H. T. and Kim, H. D. : Ginsenoside-Rh₁ and Rh₂ inhibit the induction of nitric oxide synthesis in murine peritoneal macrophages. *Biochem. Mol. Biol. Int.* **40**, 751-757 (1996).
 35. Kim, K. H., Lee, Y. S., Jung, I. S., Park, S. Y., Chung, H. Y., Lee, I. R. and Yun, Y. S. : Acidic polysaccharide from Panax ginseng, ginsan, induces Th1 cell and macrophage cytokines and generates LAK cells in synergy with rIL-2. *Planta Med.* **64**, 110-115 (1998).
 36. Lee, Y. S., Chung, I. S., Lee, I. R., Kim, K. H., Hong, W. S. and Yun, Y. S. : Activation of multiple effector pathways of immune system by the antineoplastic immunostimulator acidic polysaccharide ginsan isolated from Panax ginseng. *Anticancer Res.* **17**, 323-331 (1997).
 37. Sonoda, Y., Kasahara, T., Mukaida, N., Shimizu, N., Tomoda, M. and Takeda, T. : Stimulation of interleukin-8 production by acidic polysaccharides from the root of Panax ginseng. *Immunopharmacology* **38**, 287-294 (1998).
 38. Yun, Y. S., Lee, Y. S., Jo, S. K. and Jung, I. S. : Inhibition of autochthonous tumor by ethanol insoluble fraction from Panax ginseng as an immunomodulator. *Planta Med.* **59**, 521-524 (1993).