

홍삼의 생체 내 사이토카인 분비에 대한 면역조절효과

손은화^{1†}, 윤재웅^{2†}, 구현정², 박대원², 정용준², 남궁승³, 한효상⁴, 강세찬^{2*}

¹강원대학교 생약자원개발학과, ²가천대학교 생명과학과, ³강원대학교 물리치료학과, ⁴중부대학교 보건행정학과

Immunomodulating Effects of Red Ginseng on the Regulation of Cytokine Release *in vivo*

Eun-Hwa Sohn¹, Jae Woong Yoon², Hyun Jung Koo², Dae Won Park², Yong Joon Jeong²,
Seung Namkoong³, Hyo-Sang Han⁴ and Se Chan Kang^{2*}

¹Department of Herbal Medicine Resource, Kangwon National University, Samcheok 245-907, Korea

²Department of Life Science, Gachon University, Seongnam 461-701, Korea

³Department of Physical Therapy, Kangwon National University, Samcheok 245-907, Korea

⁴Department of Health Administration, College of Social Sciences, Joongbu University, Geumsan 312-702, Korea

Abstract - Cytokines released from innate immune cells play key roles in the regulation of the immune response. Red Ginseng (RG, steamed and dried root of *Panax ginseng* C.A. Meyer) is known to show different pharmacological effects by changed composition of saponins compared with *Panax Ginseng*. In this study, we examined the immunomodulatory effects of RG on the regulation of cytokine release in mice. RG was injected *i.p* at doses of 0.5, 5 and 50 mg/kg for 6 weeks. We assessed that the weight index of immune organs such as thymus, and spleen, and the mitogen blastogenesis of splenocytes. We also determined the levels of circulating cytokines in serum from RG-treated mice using ELISA assay. The weight index of thymus and spleen, and proliferation of mitogen response of splenocytes have increased in the RG-injected groups. In addition, the levels of IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-12 and IL-2 concentrations have significantly increased in the serum of RG-treated mice, but that of IL-10 has not. These results suggest that RG has immune stimulating effects and could be useful as a immunoregulator of circulating cytokine release *in vivo*.

Key words - Red Ginseng, Cytokines, Immunomodulation, *in vivo*

서 언

인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 오가피 나무과 (*Araliaceae*) 인삼속(*Panax*)에 속하는 다년생 음지성 속 근초로서 한반도를 중심으로 극동지역에 분포하고 있다. 인삼은 크게 인삼의 원형을 유지하는 1차 가공방법에 따라 수삼, 백삼, 홍삼으로 구분한다. 우리가 흔히 인삼으로 불리는 것은 수삼(수분 약 75%)을 건조한 백삼(수분 약 12%)을 말하여, 홍삼은 4-6년근 수삼을 엄격히 선별하여 껍질을 벗기지 않은 상태에서 증기로 찌서 건조시킨 담황갈색 또는 담적갈색 인삼을 말한다(Cho *et al.*, 2006). 인삼의 주요

약리활성 성분은 사포닌 즉, 진세노사이드(ginsenoside) 성분으로 알려지고 있으나, 인삼 중에는 비사포닌계의 여러 가지 약리활성 성분도 함유하고 있다. 이러한 성분 중 일부 성분들이 홍삼 제조과정 중 화학구조가 변환되어 새로운 사포닌 성분이 생성되기도 하고 일부 생리활성 성분의 함량이 증가하기도 한다(Park *et al.*, 2011).

인삼에 존재하는 사포닌은 주로 MG-Rb1, MG-Rb2, MG-Rc, MG-Rb1, MG-Rd와 같은 트리테르펜 올리고 배당체(triterpene-oligoglycoside)의 말로닐-진세노사이드(malonyl-ginsenoside; MG)인데, 홍삼을 제조하는 가열과정 중에 산성사포닌인 MG의 malonic acid가 이탈되면서 홍삼에는 G-Rg3, G-Rg2, G-Rh2, G-Rs1, G-Rs2, G-Rh4와 같은 미량 사포닌이 특이적으로 존재하게 된다. 이러한 약리활성 성분의 변화를 갖는 홍삼은 인삼의 효능

*교신저자(E-mail) : sckang73@gachon.ac.kr

†Eun-Hwa Sohn and Jae Woong Yoon contributed equally.

과 완전히 다르지는 않으나, 혈액순환 개선효과, 암발생 억제력, 감염방어 작용 등이 인삼보다 우수하다는 연구가 보고되어 있다(Nam, 2005). 홍삼에 대한 생리활성 연구는 *in vitro* 연구가 주로 많이 이루어졌으며, 홍삼의 특유 사포닌 성분인 G-Rh2와 비사포닌 물질로서 panaxydol, panaxynol, panaxytriol 등의 polyacetylene 성분이 암세포 증식 억제 작용이 있다고 알려져 있고, 그 외에도 고콜레스테롤 저하작용, 혈소판 응집 억제 작용, 항산화 활성 및 피부암 전진 억제작용이 있는 것으로 보고되고 있다(Park *et al.*, 2010). 이 외에도 항알러지 작용, 기억력개선 작용, 발기부전효과 등에 대한 홍삼의 새로운 효능이 보고되고 있는데, 이러한 효능은 인삼과 달리 홍삼에만 존재하는 G-Rg3, G-Rf와 G-Rh2 등의 성분에서 나타나는 효과일 수 있다는 가능성이 제기되고 있다(Jang *et al.*, 2008).

홍삼에 대한 연구는 실험동물을 이용한 *in vivo* 연구도 활발히 이루어지고 있는데, 최근에는 항당뇨작용, 항천식작용, 비만 및 고지혈증 예방 작용, 지방 분해 및 식욕 조절 작용 등이 보고되었다. Kim *et al.*(2011)은 발효홍삼이 제2형 당뇨병 환자의 혈당 및 인슐린저항성에 영향을 미친다고 보고하였고(Jee, 2007), 홍삼이 생쥐의 천식모델에서 기도과민성과 염증에 효과를 나타내었으며(Jeong *et al.*, 2010), Kwon *et al.*(2011)과 소수의 논문에서는 홍삼이 고지방식으로 유발된 비만과 이상대사상태를 개선시키는 효과를 나타내었다(Han and Kim, 2006; Park *et al.*, 2000). 또한, 홍국발효 홍삼이 알코올 투여 흰쥐의 혈중 지질 및 조직 과산화지질 농도에 영향을 미친다고 보고하고 있다(Cha *et al.*, 2009).

그러나 홍삼은 임상적으로 단독물질로서 보약의 개념인 건강보조식품으로 활용되고 있음에도 불구하고 많은 연구가 홍삼을 함유하는 복합물에 대한 효능이거나, 새로운 기능을 발굴하기 위한 천식, 비만, 고지혈증 등의 질환모델에 대한 예방 및 치료 효능에 맞추어 보고되었다. 이에 본 연구에서는 현재 임상적으로 홍삼이 건강보조식품으로 크게 이용되고 있음을 감안하여 홍삼이 단독으로 생체 내 투여되었을 때 면역계를 조절하는 분비성 사이토카인 조절의 프로파일링(profiling)에 대한 연구를 수행하고자 하였다. 특히, 홍삼을 투여한 생쥐에서 면역반응을 일으키는 주요 세포로 T세포, B세포, 대식세포가 분비하는 IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-12, IL-10, IL-2 등의 주요 사이토카인의 조절양상을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

홍삼추출물의 제조

본 연구에 사용된 시료는 국내산 홍삼으로서 6년근 300g을 구입하여 증류수로 2-3회 수세한 뒤 물기를 제거하여 음지에서 건조한 후 마쇄기로 분쇄하여 70% 에탄올에서 18시간 동안 환류추출을 수행하였으며, 시료는 가천대학교 생명과학과 내 보관하였다. 상기 추출물 1%와 리보플라빈(0.0006%), 엽산피리독신(0.01%), 질산치아민(0.006%)을 주사용 생리식염수에 용해한 후 pH 7.0으로 보정하여 실험에 사용하였다.

실험동물 및 투여

실험동물은 평균 체중 23g 내외의 5주령 SPF(specific pathogen free, 특정병원체 부재) BALB/c 생쥐를 중앙실험동물에서 구입하여 약 1주일간 순화적응 시킨 후 건강한 동물을 선택하여 온도 23±3°C, 상대습도 50±10%, 배기 10-12회, 형광등 명암 12 hr cycle, 조도 150-160 Lux로 전 실험기간 동안 실험동물용 케이지에 5마리씩 넣어 시험하였다. 사료는 고압증기 멸균한 실험동물용 고형사료를, 음수는 고압증기멸균한 상수도수를 자유 섭취시켰다. 용매 대조군에는 생리식염수를 투여하였고, 투여용량은 홍삼시료를 각각 0.5, 5 및 50 mg/kg으로 매일 1회, 6주간 복강투여 하였다. 동물의 사육은 가천대학교 동물사육시스템에서 ILAR(Institute for Laboratory Animal Research) 가이드라인에 근거하여 사육되었다.

비장 및 흉선 지수 측정

실험종료 후 흉선과 비장 지수를 산출하기 위하여 마우스를 경추탈골 시킨 후 흉선과 비장을 적출하였다. 흉선과 비장 지수는 다음과 같이 산출하였다.

흉선 또는 비장 지수(mg/g) = 흉선 또는 비장 무게/마우스 체중

생쥐 비장세포의 분리 및 배양

실험종료 후, 마우스를 경추탈골 시킨 후 비장을 분리하여 각각을 10 ml 주사기 플런저(plunger)를 사용하여 잘게 부순 후 비장세포(splenocytes)를 1200 rpm, 10분간 원심분리하여 상층액을 제거하였다. 다음 0.83% ammonium chloride 용액 10 ml을 가하여 적혈구를 용혈한 후 1200

rpm, 10분간 원심 분리한 다음 상층액을 버렸다. 다시 비장세포를 RPMI 1640 10 ml 정도 넣어 세척 과정을 3회 반복하였다. 최종적으로 RPMI 완전배지(10% FBS, penicillin 100 unit/ml, 100 µg streptomycin, 2 mM L-glutamine)에 비장세포를 현탁시킨 후 96-well plate에 비장세포수 2×10^6 cells/well로 배양하였다. 각 well 당 ConA 2.5 µg/ml, 또는 LPS 10 µg/ml를 처리하고 72 시간동안 배양한 다음 MTT 용액을 첨가하고 다시 4 시간 배양한 다음 세척 후 DMSO로 세포를 용해시킨 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. LPS와 ConA를 첨가한 후 각각 B 세포와 T 세포의 림프구 증식능은 다음과 같이 산출하였다.

$$\text{림프구 증식능} = (A \text{ or } B) - C,$$

A, B : Con A 또는 LPS를 처리한 well의 흡광도

C : Con A와 LPS를 처리하지 않은 well의 흡광도

채혈 및 혈청 내 사이토카인(cytokine) 측정

실험 종료 후 마우스 안와총정맥에서 채혈한 후 원심 분리하여 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청은 ELISA system (Amersham Life Science, England)을 이용하여 IFN- γ , TNF- α , IL-2, IL-6, IL-10 및 IL-12의 분비량 측정에 사용하였다. 분비성 사이토카인의 측정방법은 각각 측정하고자 하는 사이토카인에 대한 항체가 코팅된 plate에 biotinylated antibody 50 µl를 넣은 다음 세포배양 상층액을 50 µl 넣은 후 실온에서 2시간 방치한 다음 세척하였다. 이어 streptavidine-HRP 용액 100 µl를 넣고 실온에서 30분간 방치한 다음 3,3'-5,5' tetramethylbenzidine (TMB) substrate 용액 100 µl를 추가하여 반응시킨 후 정지용액을 넣고 450 nm에서 흡광도를 측정하고 표준곡선을 작성하여 해당하는 분비성 사이토카인의 농도를 산출하였으며, 세 번 반복실험을 실시하였다.

랫드에서의 홍삼의 급성정맥독성시험

Sprague-Dawley(SD)계 랫드(수컷 203-222 g, 암컷 159-175 g)를 중앙실험동물로부터 구입하여, 순화기간 중 건강하다고 판정된 동물에 대하여 체중을 측정하고 평균체중에 가까운 개체를 선택하여 무작위법을 이용, 군분리를 실시하였다. 시험물질인 홍삼의 투여용량은 공비 2로 하여 0, 500, 1,000 및 2,000 mg/kg의 용량으로 1군당 암, 수 각각 5마리로 하여 실시하였다. 투여는 미정맥으로 단회 투여하였으며, 투여량은 투여직전 체중에 따라 산출하였다. 모든 동물에 대하여 투여 후 14일까지 일반증상관찰을 매일 실시하였다. 모든 동물에 대해 투여 전, 투여 후 1, 3, 7 및 14일에 체중을 측정하였으며, 실험물질 투여 후 14일째에 모든 실험동물에 대한 부검을 실시하였다. CO₂ 가스를 이용하여 마취시킨 후 개복하여 후대동맥을 절단하여 방혈 치사 시킨 후 육안으로 모든 장기를 검사하였다.

통계분석

모든 실험결과와 측정치는 mean \pm S.E.로 나타내었고, 각 평균치간 차이에 대한 유의성은 GraphPad Prism(version 2.0, USA)를 이용하여 Student's *t*-test와 one way analysis of variance(ANOVA)로 분석하였다. 사후검정으로 Tukey test를 5% 유의수준으로 시행하였다.

결과 및 고찰

비장 및 흉선 지수효과

흉선무게 지수의 경우 5 mg/kg과 50 mg/kg의 용량으로 홍삼을 투여한 군이 대조군에 비하여 유의성 있는 수준으로 증가하였으며, 비장무게 지수의 경우에는 50 mg/kg의 용량으로 홍삼을 투여한 군에서 대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였다(Table 1). 흉선과 비장의 무게가 증가하는 현상은 비특이적인 면역반응 및 특이적 면역반응의

Table 1. Effects of the Red Ginseng on the thymus and spleen index in BALB/c mice

Groups	Thymus index (mg/g)	Spleen index (mg/g)
Control	0.672 \pm 0.1119	8.293 \pm 1.6140
0.5 mg/kg	0.742 \pm 0.0567	8.580 \pm 1.2479
5 mg/kg	0.809 \pm 0.0973**	9.273 \pm 1.3545
50 mg/kg	0.831 \pm 0.0982**	9.689 \pm 1.1190*

*Significantly different from control group at $p < 0.05$. **Significantly different from control groups at $p < 0.01$.

증가에 있어 중요한 지표로 인식되고 있는데, 실제로 sarcoma-180 암세포주를 접종하고 암을 발생시킨 생쥐에서 면역증강제를 투여하였을 때 임상적으로 흉선과 비장의 무게가 증가하였다는 연구 결과가 발표된 바 있다(Zheng *et al.*, 2005). 본 연구에서도 홍삼을 투여한 실험군에서 흉선과 비장의 상대 중량이 증가되었으며, 이러한 결과는 홍삼의 투여가 면역계 주요 장기의 활성변화에 있어서 면역증강제로서의 기능을 나타낸다는 것을 의미한다.

Mitogen에 의한 림프구(lymphocyte)의 증식능에 대한 효과

Resting lymphocyte는 외부 자극에 의하여 활성화되는 단계에서 세포 증식(proliferation)이 일어난다. 이러한 활성화 정도는 mitogen-stimulated response에 의하여 쉽게 확인할 수 있으며, 이는 mitogen이 특이적으로 감각된 어떤 lymphocyte subpopulation에 결합하여 cell cycle을 G₀ phase에서 G₂ phase로 자극함으로써 mitosis를 일으켜 lymphocyte population을 유용하여 측정할 수 있게 하는 방법이다(Burleson *et al.*, 1995). 홍삼의 투여가 lymphocyte의 세포증식 효과에 영향을 미치는지 알아보기 위하여 홍삼을 투여한 생쥐의 비장으로부터 비장세포

(splenocyte)를 분리하여 B세포의 mitogen LPS와 T세포의 mitogen ConA(concanavalin A)를 사용하여 세포증식능력을 측정하였다. 실험결과 홍삼 5 mg/kg 및 50 mg/kg의 용량으로 투여한 군에서 대조군에 비해 림프구의 증식능이 농도 의존적으로 세포 증식이 증가하였다(Fig. 1). LPS 처리에 의한 B세포의 증식에서 홍삼 5 mg/kg 및 50 mg/kg의 투여는 각각 8.4%와 21.2% 증가하였고, ConA 처리에 의한 T세포의 증식에서는 각각 8.2%와 43.9% 증가하였다. 특히, 홍삼투여 50 mg/kg군에서는 T세포의 증식에 매우 유의성 높은 결과를 나타냄을 확인하였다.

혈청 내 분비성 사이토카인 조절에 대한 효과

사이토카인은 면역세포가 분비하는 단백질로써 면역세포들 간의 활성을 조절하고 면역체계를 조절하는 중요한 매개체이다. 특정 질환에 대한 원인과 치료를 규명하거나 면역증강요인 및 면역억제요인을 규명하는데 있어서 사이토카인의 역할은 매우 중요하며, 이미 그 기능이 밝혀진 IL-2, IFN- γ , TNF- α 등은 이들의 분비증가 또는 분비억제를 조절하는 약제 개발이 이루어지고 있는 상태이다(Craddock and Thomas, 2006; Misson *et al.*, 2011).

본 연구에서는 홍삼을 투여한 군에서 T세포, B세포 및 대식세포 등 면역계를 이루는 주요 세포들이 분비하는 사이토카인의 조절양상을 측정함으로써 건강기능식품으로의 사용에 구체적으로 어떤 영향을 미치는지 알아보려고 하였다. 실험 결과 홍삼 5 mg/kg과 50 mg/kg의 용량으로 투여한 군에서 혈중 IFN- γ 의 수치가 대조군에 비하여 유의적인 수준으로 증가하였다(Fig. 2a). IFN- γ 는 주로 T세포와 자연살해세포(NK)에서 분비되는데, 대식세포를 활성화시키고, MHC 발현을 증가시키며, 특히, 인체에 발생하는 암항원 단백질에 대하여 면역반응계에 암항원을 제시하는 효과 (antigen presenting effects)를 증가시킴으로써 암항원에 대한 인체 면역 활성을 높여 신장암, 대장암, 담낭암 등을 효과적으로 줄이는 것으로 알려져 있다(Kovacs, 2000; Zhou, 2009).

TNF- α 와 IL-6의 경우에는 홍삼 투여군 모두에서 혈중 수치가 증가하였다(Fig. 2b, 2c). TNF- α 와 IL-6는 T세포나 활성화된 대식세포에서 주로 생산되며 선천성 면역과 관련되어 내피세포와 백혈구에 작용하여 병원성 미생물 등의 감염에 대한 초기 염증반응을 유발하고 조절한다(Abul *et al.*, 2009). 특히 IL-6은 선천성 면역과 적응 면역모두에서

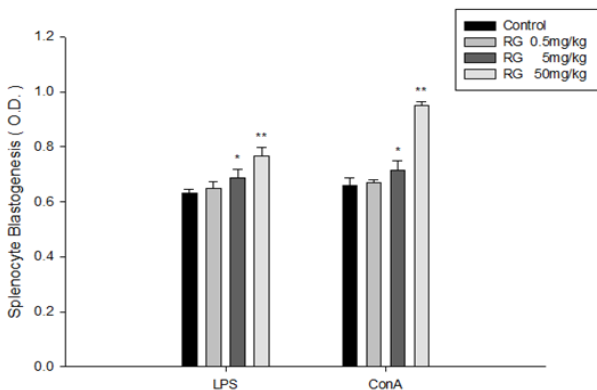


Fig. 1. The effect of Red Ginseng on proliferation of LPS- and ConA-treated splenocytes from mice. Splenocytes from Red Ginseng *i.p.* injected mice were treated with LPS (10 μ g/ml) or ConA (2.5 μ g/ml) for 72 hrs. The proliferation of splenocytes was assessed by MTT assay. Cell density was measured at a wavelength of 570 nm. Cell proliferations were represented by the percentage of control. The results are mean \pm S.E. of quintuplicate from a representative experiment (* p < 0.05, ** p < 0.01; significantly different from the LPS alone or ConA alone treated group).

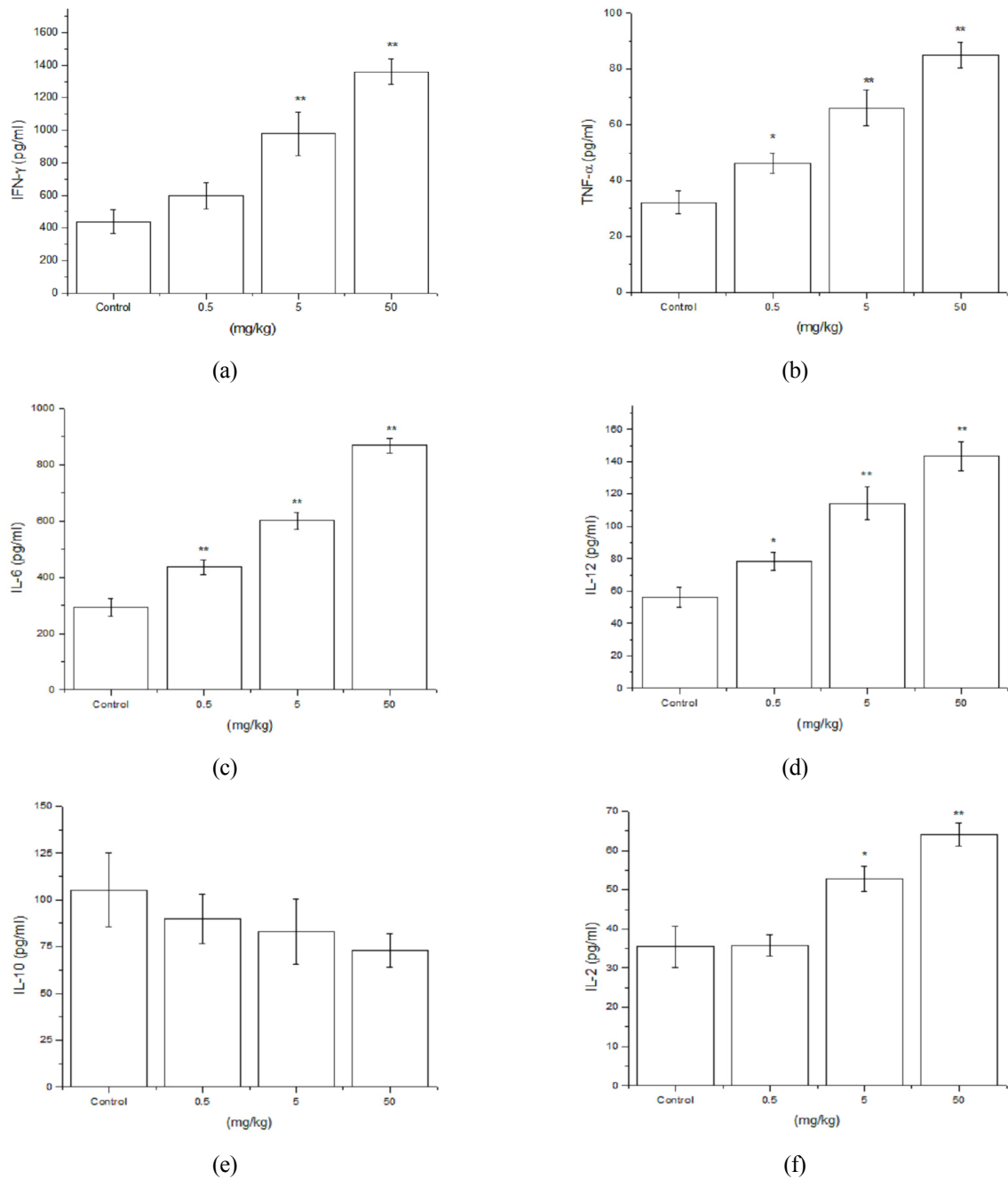


Fig. 2. Effects of the Red Ginseng on the levels of IFN- γ (a), TNF- α (b), IL-6 (c), IL-12 (d), IL-10 (e) and IL-2 (f) in mice serum. After completion of all treatments *in vivo*, blood samples were collected from the inferior vena cava and serum was separated. The level of IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-12, IL-10 and IL-2 in serum were measured by ELISA. The data are presented as the mean \pm S.E. of a representative experiment of triplicates (* p <0.05, ** p <0.01; significantly different from control group).

기능을 하는 사이토카인이며 T세포에서 분비되어 외상에 대한 면역 반응을 활성화시키고(Kishimoto *et al.*, 1995), T세포와 B세포의 증식과 분화를 촉진시킨다고 알려져 있

다(Dienz and Rincon, 2009).

IL-12는 대식세포와 수지상세포에서 분비되는 사이토카인으로 CD4 T세포를 분화시키거나, NK 세포와 T세포를

자극하여 IFN- γ 를 생성시켜 종양의 성장과 전이를 억제한다(Lasek *et al.*, 1997; Waldner and Neurath, 2009). 이와 같이 암면역에 중요한 IL-12의 분비가 홍삼을 투여한 모든 군에서 유의적인 수준으로 증가하였다(Fig. 2d).

앞서 측정했던 IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-12와는 달리 IL-10은 T세포와 대식세포에 직접적으로 작용하여 세포의 활성화를 억제하고 대식세포의 항원 제시 기능을 약하게 함으로써 면역 반응을 진정시키는 면역계에 대한 억제기능을

담당하는 억제성 사이토카인이다(Fiorentino *et al.*, 1991). IL-10은 항염증성 특징(anti-inflammatory properties)을 가지고 있어서 활성화된 대식세포에서 분비하는 TNF- α , IL-6, IL-1 등과 같이 염증성 사이토카인의 발현을 억제 시키기도 한다(Berlato *et al.*, 2002). 본 실험에서 홍삼의 투여는 항염증성 및 대식세포의 활성화를 억제하는 IL-10의 혈중 농도 변화에는 영향을 미치지 않았다(Fig. 2e).

IL-2는 T cell growth factor로 알려져 있을 만큼 T세

Table 2. Mortality of Sprague-Dawley rats treated with the Red Ginseng

Sex	Dose (mg/kg)	No. of rats	Hours after administration						Days after administration						Final mortality		
			1	2	3	4	5	6	3	6	10	11	12	13		14	
Male	Control	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	500	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	1,000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	2,000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
Female	Control	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	500	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	1,000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	2,000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	

Table 3. Body weight in Sarague-Dawley rats intravenously treated with the Red Ginseng

Sex	Dose (mg/kg)	Number of rats	Days after administration			
			0	7	14	
Male	Control	5	Mean	246.5	300.1	334.0
			S.D.	3.11	7.01	14.61
	500	5	Mean	254.6	275.7	305.4
			S.D.	15.21	5.45	2.12
	1,000	5	Mean	240.7	286.4	302.9
			S.D.	15.60	19.60	16.34
	2,000	5	Mean	250.2	300.0	324.6
			S.D.	3.01	7.20	5.01
Female	Control	5	Mean	246.7	298.3	322.6
			S.D.	19.59	12.61	18.70
	500	5	Mean	242.1	264.5	310.7
			S.D.	19.61	14.73	12.12
	1,000	5	Mean	222.8	288.7	318.3
			S.D.	2.71	6.29	8.79
	2,000	5	Mean	244.2	292.1	316.8
			S.D.	14.25	6.67	16.30

포의 분화, 증식 및 활성을 유도할 뿐만 아니라 NK 세포의 형성 및 B세포의 항체생성을 증가시켜 종양 전이 억제에 효과가 있는 것으로 알려져 있는 면역 활성화의 대표적인 사이토카인으로, 현재 임상적으로도 조직이식 등에서 사용되는 대부분의 면역억제제들은 IL-2의 분비 및 작용을 억제하는 작용 기전으로 개발되어 세계적으로 보급되고 있다 (Andersen *et al.*, 2003; Campara *et al.*, 2010). 본 실험 결과, 5와 50 mg/kg의 용량으로 홍삼을 투여한 군에서 혈중 수치가 증가하였다(Fig. 2f). 이와 같은 결과에서 면역관련 특히 T세포의 증식과 분화에 관련된 IL-2의 생성에 홍삼의 투여가 효과적으로 작용하고 있음을 알 수 있었다.

홍삼의 급성정맥독성시험

본 실험에 이용한 홍삼에 대한 독성을 조사하기 위해 SD 계통 암수 랫드에 0, 500, 1,000 및 2,000 mg/kg b.w. 용량으로 정맥 내 투여하여 단회투여독성시험을 실시하였다. 그 결과, 모든 시험군에서 사망동물 및 특이한 일반증상은 관찰되지 않았다. 체중 측정 결과, 모든 시험군의 대부분 시험동물에서 정상적인 체중증가가 관찰되었고, 중간 유의한 체중변화 또한 관찰되지 않았다. 실험종료 시 모든 실험동물의 부검결과, 특이한 육안소견은 관찰되지 않았다 (Table 2, 3).

적 요

홍삼의 6주간의 복강투여가 생체 내 면역계에 미치는 영향을 알아보기 위하여 면역계를 구성하는 주요 장기인 비장과 흉선의 무게변화와 성숙된 B세포와 T세포가 많이 분포되어 있는 비장세포를 배양하여 mitogen에 대한 비장세포의 세포증식능력을 연구하였다. 또한, 생체내 투여되는 홍삼이 면역반응의 매개역할을 하는 분비성 사이토카인의 조절 양상을 확인하기 위하여 생쥐의 혈청에서 분리한 사이토카인의 생성변화를 측정하였다. 연구결과 홍삼의 투여는 비장과 흉선의 무게를 증가시켰고, 비장세포내의 B세포와 T세포의 증식능력에도 유의적인 효과를 나타내었다. 혈청 내 분비된 T세포, B세포 및 대식세포가 분비하는 사이토카인의 농도변화에서도 홍삼 투여군은 면역계를 활성화시키는 IFN- γ , TNF- α , IL-2, IL-6 및 IL-12의 분비량을 모두 증가시켰으며, 면역억제성 사이토카인으로 알려진 IL-10의 분비변화에는 영향을 미치지 않았다. 이와 같은

결과는 홍삼의 투여가 면역 반응계 전반을 조절하는 사이토카인의 생성에 영향을 미치며 모두 면역계를 활성화시키는 방향으로 작용시키는 것을 의미한다. 특히, 흉선과 비장의 무게지수가 증가되었다는 것은 세포증식 등의 변화에 영향을 미침으로써 면역계를 활성화시키는 것으로 생각되며, 특히 흉선의 무게 증가와 ConA에 대한 T세포 증식능력의 유의성 변화 및 T세포가 분비하는 IL-2, IFN- γ 등의 사이토카인의 증가는 홍삼의 생체 내 투여가 T세포의 활성화에 크게 영향을 미치는 것으로 사료된다.

인용문헌

Abul K.A., H.L. Andrew and P. Shiv. 2009. Cellular and molecular immunology 6e, Saunders, Philadelphia, USA. pp. 271-296.

Andersen M.H., J. Gehl, S. Reker, L.Ø. Pedersen, J.C. Becker, P. Geertsen and P. Straten. 2003. Dynamic changes of specific T cell responses to melanoma correlate with IL-2 administration. *Semin. Cancer Biol.* 13:449-459.

Berlato, C., M.A. Cassatella, I. Kinjyo, L. Gatto, A. Yoshimura and F. Bazzoni. 2002. Involvement of suppressor of cytokine signaling-3 as a mediator of the inhibitory effects of IL-10 on lipopolysaccharide-induced macrophage activation. *J. Immunol.* 168:6404-6411.

Burleson, G.R., J.H. Dean and A.E. Munson, 1995. *Methods in immunotoxicology.* Wiley-Liss, New York, USA. Vol 1. pp. 197-210.

Campara, M., I.G. Tzvetanov and J. Oberholzer. 2010. Interleukin-2 receptor blockade with humanized monoclonal antibody for solid organ transplantation. *Expert. Opin. Biol. Ther.* 10:959-969.

Cha, J.Y., H.Y. Ahn, K.E. Eom, B.K. Park, B.S. Jun, J.C. Park, C.H. Lee and Y.S. Cho. 2009. Effect of monascus-fermented Korean red ginseng powder on the contents of serum lipid and tissue lipid peroxidation in alcohol feeding rats. *J. Life Sci.* 19:983-993 (in Korean).

Cho, W.C., W.S. Chung, S.K. Lee, A.W. Leung, C.H. Cheng and K.K. Yue. 2006. Ginsenoside Re of Panax ginseng possesses significant antioxidant and antihyperlipidemic efficacies in streptozotocin-induced diabetic rats. *Eur. J. Pharmacol.* 550:173-179.

Craddock, D. and A. Thomas. 2006. Cytokines and late-life depression. *Essent. Psychopharmacol.* 7:42-52.

- Dienz, O. and M. Rincon. 2009. The effects of IL-6 on CD4 T cell responses. *Clin. Immunol.* 130:27-33.
- Fiorentino D.F., A. Zlotnik, P. Vieira, T.R. Mosmann, M. Howard, K.W. Moore and A. O'Garra. 1991. IL-10 acts on the antigenpresenting cell to inhibit cytokine production by Th1 cells. *J. Immunol.* 146:3444-3451.
- Han, Y.J. and J.H. Kim. 2006. Efficacy of crude saponin of Korea red ginseng on high fat diet-induced obese rats. *J. Korean Oriental Med.* 27:1-13 (in Korean).
- Jang, D.J., M.S. Lee, B.C. Shin, Y.C. Lee and E. Ernst. 2008. Red ginseng for treating erectile dysfunction: a systematic review. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 66(4):444-450.
- Jee, J.H. 2007. Antidiabetic and oxidative stress relieving effects of fermented red ginseng. MS Thesis. Pusan National University, Busan, Korea (in Korean).
- Jeong, Y.J., J.W. Paeng, D.C. Choi and B.J. Lee. 2010. Effects of Korean red ginseng extracts on airway hyperresponsiveness and inflammation in a murine asthma model. *Korean J. Asthma Allergy Clin. Immunol.* 30:43-49 (in Korean).
- Kim, H.O., M.J. Park and J.S. Han. 2011. Effects of fermented red ginseng supplementation on blood glucose and insulin resistance in type 2 diabetic patients. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 40:696-703 (in Korean).
- Kishimoto T, S. Akira, M. Narazaki and T. Taga. 1995. Interleukin-6 family of cytokines and gp130. *Blood.* 86:1243-1254.
- Kovacs E. 2000. Serum level IL-12 and the production of IFN- γ , IL-2 and IL-4 by peripheral blood mononuclear cell (PBMC) in cancer patients treated with Ciscum album extract. *Biomed. Pharmacother.* 54:305-310.
- Kwon, D.H., M.J. Lee, C.Y. Lim, S. Boe, S.J. Lee and H.J. Kim. 2011. Efficacy of red ginseng by oriental medical obesity syndrome differentiation on obese woman: randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J. Soc. Korean Med. Obesity Res.* 11:1-14 (in Korean).
- Lasek W, W. Feleszko, J. Golab, T. Stokłosa, M. Marczak, A. Dabrowska, M. Malejczyk and M. Jakóisiak. 1997. Antitumor effects of the combination immunotherapy with interleukin-12 and tumor necrosis factor alpha in mice. *Cancer Immunol. Immunother.* 2:100-108.
- Misson, D.R., D.R. Abdalla, A.M. Borges, D.S. Shimba, S.J. Adad, M.A. Michelin and E.F. Murta. 2011. Cytokine serum levels in patients with cervical intraepithelial neoplasia grade II-III treated with intralesional interferon- α 2b. *Tumori.* 97:578-584.
- Nam, K. Y. 2005. The comparative understanding between red ginseng and white ginsengs, processed ginsengs (*Panax ginseng* C. A. Meyer). *J. Ginseng Res.* 29:1-18.
- Park, H.J., J.H. Lee, S.J. Lee, H.S. Ham, H.J. Cho, C.R. Lim, Y.B. Yoo and K.H. Park. 2000. Effect of intaking of red ginseng products on correlation between obesity and blood lipids. *Korean J. Biomed. Lab. Sci.* 6:253-260 (in Korean).
- Park, H.J., D.H. Jung, H. Joo, N.S. Kang, S.A. Jang, J.G. Lee and E.H. Sohn. 2010. The comparative study of anti-allergic and anti-inflammatory effects by fermented red ginseng and red ginseng. *Korean J. Plant Res.* 23(5):415-422 (in Korean).
- Park, K.H., Y.S. Kim and J.H. Jeong. 2011. Inhibitory effects of ginseng extracts on histamine-release from rat's mast cell. *Korean J. Plant Res.* 24(1):98-104 (in Korean).
- Waldner, M.J. and M.F. Neurath. 2009. Gene therapy using IL-12 family members in infection, auto immunity, and cancer. *Curr. Gene Ther.* 9:239-247.
- Zheng R, S. Jie, D. Hanchuan and Moucheng W. 2005. Characterization and immunomodulating activities of polysaccharide from *Lentinus edodes*. *Int. Immunopharmacol.* 5(5):811-820.
- Zhou, F. 2009. Molecular mechanisms of IFN- γ to up-regulate MHC class I antigen processing and presentation. *Int. Rev. Immunol.* 28:239-260.

(Received 23 July 2012 ; Revised 12 October 2012 ; Accepted 22 October 2012)