

납의 免疫毒性에 미치는 人蔘의 影響(I)

I. 體液性免疫 및 生化學的 檢査

金暉培 · 安榮根 · 金周永 · 金正勳

圓光大學校 藥學大學

The Effect of Ginseng Petroleum Ether Fraction on Immunosuppressed Mice by Lead acetate (I)

I. Humoral Immune Response and Biochemical Studies

Hwi Bae Kim, Young Keun Ahn, Joo Young Kim and Jung Hoon Kim

College of Pharmacy, Won Kwang University

ABSTRACT

Experiments were performed on mice to investigate the effect of Panax ginseng petroleum ether fraction on the immunotoxicity of lead acetate.

Lead acetate was administered in the drinking water and ginseng p-ether fraction was injected intraperitoneally. Mice were sensitized and challenged with sheep red blood cell. Humoral immune responses were evaluated by antibody production and Arthus reaction. Pathotoxicological influences were measured by serum protein, alkaline phosphatase and total cholesterol. The weight of liver, spleen and thymus were measured.

Lead acetate exposure significantly decreased hemagglutination titer, hemolysin titer, Arthus reaction, spleen and thymus weight. Ginseng p-ether fraction administration significantly restored or potentiated reduced humoral immune response, spleen and thymus weight. Reduced serum A/G ratio, total cholesterol and alkaline phosphatase activity were restored or increased by ginseng p-ether fraction administration.

緒 論

납은 紀元前부터 鉛板, 鉛管, 鉛合金, 食器, 容器, 彈丸, antimony 亞鉛合金, battery, 建築材料 등으로 사용되어 왔고 각종 鉛化合物은 塗料, 顏料, 粘藥, 醫藥 등에 광범위하게 이용되었다.

납의 毒性에 관하여 Sasa 등을 비롯한 많은 學者들이 腎臟, 腦, 生殖器管, 造血器管, 中樞 및 末梢 神經系에 대한 毒性을 研究 報告한 바 있다.^{1~13)}

또한 납이 低濃度에서 細菌感染에 對한 宿主의 抵抗力을 減少시켜 細菌感染을 증가시키며, 납을一回 投與하였을 때 IgM 抗體는 증가하나 IgG 抗體는 현저하게 감소하였고,¹⁴⁾ Luster 등은 장기간 投與時

B淋巴球보다 T淋巴球에 직접 또는 간접으로 영향을 끼쳐서 抗體生産을 抑制한다고 報告하였고¹⁵⁾ Hambach 등은 납이 IgG 抗體 生成을 抑制하였고, suppressor T細胞가 第一次 標的細胞임을 究明하였다.¹⁶⁾

人蔘은 東洋의 靈藥 또는 仙藥으로 알려졌고, 「日華子諸家本草」에 의하면 「食을 開하고 胃를 開케 하며 中을 調하며 氣를 活하며 金石의 毒藥을 殺함」이라고 하였고 최근 中國에서는 人蔘七効說 즉 補氣救脫, 益血復脈, 良心安神, 生津止渴, 補肺定喘, 健脾止渴, 托毒合瘡이라고 人蔘의 効能을 기술하고 있어 그 藥効의 多元性을 알 수 있다.¹⁷⁾ Chang 등에 의한 免疫機能抑制作用에 대하여 人蔘의 butanol 抽出分劃物은 細胞性免疫 修飾作用이 있었고 ethanol 抽出分劃物은 體液性 및 細胞性免疫修飾作用이 있었으며, 石油 ether 抽出分劃物은 體液性 및 細胞性免疫修飾作用이 顯著하다고 報告하였다.^{22,23)}

납의 體液性 免疫抑制作用에 대하여 人蔘의 石油 ether 抽出分劃物의 免疫修飾効果가 期待되어 本實驗에 착수하였던바 有意한 結果를 얻었기에 이를 報告하는 바이다.

實驗材料 및 方法

1. 實驗動物

生後 5~6 週齡, 體重 17~21 g의 ICR mouse를 경남축산(경기도 화성군 소재)에서 분양받아 市販飼料로 1週間 給食하여 適應시킨 後에 8~10마리를 1群으로 하고 전체를 3群으로 하며 各群으로 分類하여 2週 및 4週間 飼育하였다.

2. Lead acetate 溶液의 調製 및 投與

Lead acetate(extra pure grade) 1g을 精製水 1,000 ml에 잘 溶解시키고 對照群 및 實驗群에 임의로 飲水케 하였다. 全實驗期間동안 飲水量을 每日 1회 一定한 時間에 計測하였다.

3. 人蔘의 石油 Ether 分劃의 調製 및 投與

人蔘의 50% ethanol 엑기스 3g을 취하여 300 ml의

石油 ether에 넣어 15시간동안 soxhlet 裝置로 抽出한 후 窒素 gas 氣流下에서 蒸發 乾固시켜서 얻은 石油 ether 分劃 320 mg을 少量의 無水 ethanol에 濕潤시키고 phosphate buffered saline(以下 PBS) 160 ml에 용해하여 體重 kg 당 5 mg, 10 mg, 20 mg을 各各 2週 및 4週間 1日, 1回 一定한 時間에 腹腔內 注射하였다.

4. 體重 및 臟器의 重量 計測

體重; 實驗動物의 體重은 lead acetate 용액 및 人蔘의 石油 ether 分劃 投與 開始日과 最終日에 測定하였다.

臟器重量; 實驗動物의 頸動脈을 切斷 採血한 후 脾臟, 肝臟, 胸腺을 各各 摘出하여 그 外觀을 관찰하고 그 重量을 測定, 對體重 百分比를 求하였다.

5. 抗原의 調製 및 免疫

抗原; 本實驗에서는 緬羊赤血球(sheep red blood cell; 以下 S-RBC)를 사용하였다. 그 방법은 雄性 緬羊의 頸動脈으로 부터 heparin을 가한 주사기로 採血한 후 同量의 Alserver's 氏液(pH=6.1)을 가하여 4°C에서 保存하여 2週日이내에 사용하였다. 保存 중인 S-RBC를 사용할 때에는 使用直前 PBS로 3回 遠心洗滌한 후 1×10^8 S-RBC/ml을 濃度로 Hank's balanced salt solution(以下 HBSS)에 浮游시켜 使用하였다.

免疫; 上記 抗原 浮游液 0.1 ml(1×10^8 S-RBC)를 河 등의 報告를 參考하여 mouse의 尾靜脈에 注射하여 一次免疫을 實施하였다. 二次免疫은 역시 河 등의 報告를 參考하여 一次免疫을 實施한 4日 後에 mouse 左側後肢足蹠皮內에 2×10^8 S-RBC/ml 浮游液 0.05 ml(1×10^8 S-RBC)를 注射하여 惹起시켰다.²⁴⁾

6. 赤血球 凝集素價 및 溶血素價의 測定, 血清의 分離 및 非動化

Mouse의 頸動脈을 切斷하여 血液을 採取 凝固시킨 後에 遠心分離하여 血清을 분리하고 56°C에서 30분간 非動化시킨 후 4°C에서 보존하여 사용하였다.

7. 赤血球凝集素價(Hemagglutination titer : 以下 HA titer)의 測定

S-RBC의 凝集素價를 microtitration tray (Nunclon micro test tray)를 사용하여 다음과 같이 實施하였다. 즉 各實驗動物로 부터 얻은 個個의 非動化血清을 各 well에 HBSS로 2倍 系列로 稀釋한 후 HBSS에 浮游한 0.5% S-RBC 0.025 ml를 잘 혼합한 다음 37°C에서 18시간 放置하여 赤血球의 凝集類型을 觀察判讀하였으며 凝集을 일으키는 血清의 最高稀釋度를 그 血清의 凝集素價로 하였다.²⁵⁾

8. 赤血球 溶血素價(Hemolysin titer : 以下 HY titer)의 測定

S-RBC의 量 및 血清의 稀釋은 凝集素價測定時와 동일하게 실시하였으며 S-RBC와 稀釋血清이 들어 있는 各 well에 guinea pig complement를 20倍로 稀釋하여 0.025 ml씩 가한 다음 37°C에서 1시간 放置하여 溶血 여부를 觀察하였다. 이 때에 完全溶血을 일으키는 血清의 最高稀釋度를 그 力價로 判讀하였다.²⁵⁾

9. 足蹠腫脹反應 測定(Foot pad swelling test)

Artus 反應(immediate type hypersensitivity)을 測定하기 위하여 河 等이 記述한 方法에 準하여 다음과 같이 實施하였다.²⁶⁾ 즉 1次免疫 4日 후에 S-RBC 0.05 ml(1×10⁸)를 mouse의 左側後肢足蹠에 皮內注射하였다. 注射後 一定時間이 경과한 후 腫脹의 두께를 0.01 mm 눈금 microcaliper로 測定하

였으며 腫脹程度의 측정은 측정에 따른 誤差를 피하기 위하여 2回 측정한 數值를 평균하였으며, 2次免疫 3~4시간후의 反應을 Arthus 反應으로 간주하였다. 足蹠腫脹指數의 표시는 다음과 같다.

$$\text{Foot pad swelling index (足蹠腫脹指數)} = \frac{\text{腫脹時 두께} - \text{正常 두께}}{\text{正常 두께}}$$

10. 生化學的 檢査

血清總蛋白의 測定 : Biuret 法²⁷⁾

血清 albumin의 測定 : BCG 法²⁸⁾

血清 alkaline phosphatase의 測定 : Kind·King 法의 變法²⁹⁾

血清 總 cholesterol의 測定 : Allain 法³⁰⁾에 準하여 測定하였다.

實驗 結果

Mouse에 있어서 lead acetate의 免疫抑制作用에 대한 人蔘石油 ether 分割의 影響을 究明하고자 실시한 本實驗의 結果는 다음과 같다.

1. Lead Acetate의 攝取量

正常群은 精製水를, 對照群과 各實驗群은 1,000 p.p.m.의 lead acetate 溶液을 各各 日의 飲用케한 結果 各群 全部 1日 飲料攝取量이 平均 250 ml/kg 이었다.

2. 體重, 脾臟, 胸腺 및 肝臟의 重量變化

體重的 變化 ; 各群의 實驗 2週 및 4週후의 體重的

Table 1. Effect of Ginseng Petroleum Ether Fraction on the Body Weight on Immunosuppressed Mice by Lead Acetate

P. Ether Fract. (mg/kg/day, ip.)	Initial Wt. (gm)		Final Wt. (gm)		Wt. gained (gm)	
	2 weeks	4 weeks	2 weeks	4 weeks	2 weeks	4 weeks
Normal	17.63 ± 0.32	20.70 ± 0.50	20.40 ± 0.60	24.69 ± 0.74	2.77 ± 0.26	4.70 ± 0.38
Pb(Ac) ₂	17.93 ± 0.27	21.19 ± 0.49	20.84 ± 0.72	24.99 ± 1.18	2.91 ± 0.19	4.00 ± 0.36
Pb(Ac) ₂ + 5	18.54 ± 0.45	20.00 ± 0.86	22.41 ± 0.63	24.00 ± 0.90	3.88 ± 0.49	3.67 ± 0.31
Pb(Ac) ₂ + 10	17.78 ± 0.39	19.31 ± 0.79	19.82 ± 0.42	24.71 ± 0.84	2.03 ± 0.27	4.43 ± 0.35
Pb(Ac) ₂ + 20	17.67 ± 0.69	19.13 ± 0.49	20.63 ± 0.72	23.45 ± 0.87	2.47 ± 0.41	4.30 ± 0.29

Each value is the mean ± s.e of 8 - 10 mice.

Significant difference from Pb(Ac)₂ treated group

변화는 Table 1과 같다.

즉 2週 實驗群에서는 正常群이 2.77 ± 0.26 g의 體重 증가를 보인 반면에 lead acetate의 單獨 投與群은 2.91 ± 0.19 g이 증가되었고 人蔘石油 ether 分割을 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg을 併用 投與한 群은 各各 3.88 ± 0.49 g, 2.03 ± 0.27 g, 그리고 2.47 ± 0.41 g의 體重증가를 보였다. 한편 4週 實驗群에서는 正常群이 4.70 ± 0.38 g의 體重증가를 보였으나 lead acetate 單獨投與群은 4.00 ± 0.36 g으로서 正常群에 비하여 體重증가가 鈍化되었으며 人蔘石油 ether 分割을 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg 併用投與한 群은 各各 3.67 ± 0.31 g, 4.43 ± 0.35 g, 그리고 4.30 ± 0.29 g의 體重증가가 鈍化되었다.

脾臟의 重量 變化; 各群의 2週 및 4週後의 脾臟重量變化는 Table 2에서 보는 바와 같이 2週投與群의 脾臟 對 體重 重量比가 對照群인 lead acetate 投與

群이 $0.61 \pm 0.05\%$ 인데 비하여 人蔘石油 ether 分割 5 mg/kg 投與群이 $0.74 \pm 0.05\%$ 였고, 10 mg/kg 投與群이 $0.74 \pm 0.05\%$ 였고, 10 mg/kg 投與群이 $0.82 \pm 0.04\%$ 로서 對照群에 비하여 顯著的한 증가를 보였으며 20 mg/kg 投與群도 $1.17 \pm 0.08\%$ 로서 對照群에 비하여 매우 顯著的한 증가를 보였다. 4週 投與群에서는 正常群이 $0.84 \pm 0.05\%$ 인데 반하여 lead acetate 投與群은 $0.58 \pm 0.05\%$ 로 減少하였으나 人蔘石油 ether 分割 投與群은 各各 $0.78 \pm 0.05\%$, $0.81 \pm 0.07\%$, $0.9 \pm 0.10\%$ 로서 對照群에 비하여 모두 매우 顯著的한 증가를 보였다.

胸腺의 重量 變化; 各群의 2週 및 4週後의 胸腺의 重量變化는 Table 3에서 보는 바와 같이 2週 投與群은 胸腺 對 體重重量比가 正常群이 $0.25 \pm 0.01\%$ 인데 비하여 lead acetate 投與群이 $0.22 \pm 0.01\%$ 로서 약간의 減少가 있었고, 人蔘石油 ether 分割 5

Table 2. Effect of Ginseng Petroleum Ether Fraction on the Spleen Weight on Immunosuppressed Mice by Lead Acetate

P. Ether Fract. (mg/kg/day, ip.)	Spleen Wt. (mg)		Spleen Wt. Body Wt. × 100 (%)	
	2 weeks	4 weeks	2 weeks	4 weeks
Normal	165.56 ± 10.26	208.25 ± 11.03	0.80 ± 0.03	0.84 ± 0.05
Pb(Ac) ₂	127.00 ± 6.30	145.99 ± 9.06	0.61 ± 0.05	0.58 ± 0.05
Pb(Ac) ₂ + 5	$163.14 \pm 9.68^{**}$	$188.33 \pm 10.10^{**}$	0.74 ± 0.05	$0.78 \pm 0.05^{**}$
Pb(Ac) ₂ + 10	$163.00 \pm 8.09^{**}$	$201.81 \pm 10.88^{**}$	$0.82 \pm 0.04^{**}$	$0.81 \pm 0.07^{**}$
Pb(Ac) ₂ + 20	$241.50 \pm 13.23^{**}$	$215.93 \pm 13.93^{**}$	$1.17 \pm 0.08^{**}$	$0.91 \pm 0.10^{**}$

Each value is the mean \pm s.e of 8 - 10 mice.

Significant difference from Pb(Ac)₂ treated group. (**, P < 0.01)

Table 3. Effect of Ginseng Petroleum Ether Fraction on the Thymus Weight on Immunosuppressed Mice by Lead Acetate

P. Ether Fract. (mg/kg/day, i.p)	Thymus Wt. (mg)		Thymus Wt. Body Wt. × 100 (%)	
	2 weeks	4 weeks	2 weeks	4 weeks
Normal	50.10 ± 3.37	63.60 ± 4.90	0.25 ± 0.01	0.26 ± 0.01
Pb(Ac) ₂	45.80 ± 3.86	53.14 ± 6.20	0.22 ± 0.01	0.22 ± 0.01
Pb(Ac) ₂ + 5	57.46 ± 5.02	$81.67 \pm 3.67^{**}$	$0.26 \pm 0.01^*$	$0.34 \pm 0.01^{**}$
Pb(Ac) ₂ + 10	$68.40 \pm 6.51^{**}$	$68.71 \pm 4.88^*$	$0.36 \pm 0.01^{**}$	$0.27 \pm 0.01^{**}$
Pb(Ac) ₂ + 20	41.26 ± 4.15	49.50 ± 3.34	0.20 ± 0.02	0.21 ± 0.01

Each value is the mean \pm s. e of 8 - 10 mice.

Significant difference from Pb(Ac)₂ treated group. (*, P < 0.05, **, P < 0.01)

Table 4. Effect of Ginseng Petroleum Ether Fraction on the Liver Weight on Immunosuppressed Mice by Lead Acetate

P. Ether Fract. (mg/kg/day, i.p)	Liver Wt. (mg)		$\frac{\text{Liver Wt.}}{\text{Body Wt.}} \times 100(\%)$	
	2 weeks	4 weeks	2 weeks	4 weeks
Normal	1.10 ± 0.06	1.39 ± 0.09	5.43 ± 0.24	5.79 ± 0.26
Pb(Ac) ₂	1.14 ± 0.07	1.14 ± 0.06	5.68 ± 0.12	4.58 ± 0.17
Pb(Ac) ₂ + 5	1.14 ± 0.05	1.32 ± 0.05	5.19 ± 0.29	5.50 ± 0.29*
Pb(Ac) ₂ + 10	1.16 ± 0.06	1.14 ± 0.05	5.91 ± 0.27	4.56 ± 0.32
Pb(Ac) ₂ + 20	1.18 ± 0.10	1.49 ± 0.11*	5.96 ± 0.26	6.47 ± 0.44**

Each value is the mean ± s. e. of 8 - 10 mice.

Significant difference from Pb(Ac)₂ treated group. (*, P < 0.05, **, P < 0.01)

mg/kg 投與群 및 10 mg/kg 投與群에서 各各 0.26±0.01%, 0.36±0.01%로서 對照群에 비하여 매우 顯著하게 증가하였다. 4週 投與群에서는 正常群이 0.26±0.01%인데 비하여 lead acetate 投與群이 0.22±0.01%로서 약간 減少하였고, 人蔘石油 ether 分割 5 mg/kg 投與群 및 10 mg/kg 投與群에서 各各 0.34±0.01% 및 0.27±0.01%로서 對照群에 비해 매우 顯著하게 증가되었다.

肝臟의 重量變化; 2週 및 4週 實驗群에 있어서 各群의 肝臟의 重量變化는 Table 4에서 보는 바와 같이 2週 投與群에서는 肝臟對 體重 重量比가 正常群이 5.43±0.24%, lead acetate 投與群이 5.68±0.12%, 人蔘石油 ether 分割 5 mg/kg 投與群이 5.19±0.20%, 10 mg/kg 投與群이 5.91±0.27%, 20 mg/kg 投與群이 5.96±0.26%로서 有意한 차이가 없었다. 반면 4週 實驗群은 正常群이 5.79±0.26%인데 비하여 lead acetate 投與群이 4.58±0.17%로서 약간 減少하였으며 人蔘石油 ether 分割 5 mg/kg 投與群이 5.50±0.29%로서 lead acetate 投與群에 비하여 顯著하게 증가하였으며 20 mg/kg 投與群이 6.47±0.44%로서 매우 顯著하게 증가하였다.

3. 體液性 免疫에 미치는 影響

赤血球凝集素價 및 赤血球溶血素價; Lead acetate 및 人蔘石油 ether 分割을 4週間 投與한 후 緬羊赤血球로 免疫하여 측정한 赤血球凝集素價 및 赤血球溶血素價는 Table 5와 같다. 赤血球凝集素價(HA

Table 5. Effect of Ginseng Petroleum Ether Fraction on Antibody Production on Immunosuppressed Mice by Lead Acetate

P. Ether Fract. (mg/kg/day, i.p)	HA titer (log ₂)	Hy titer (log ₂)
Normal	4.00 ± 0.10	5.3 ± 0.06
Pb(Ac) ₂	2.33 ± 0.25	1.4 ± 0.16
Pb(Ac) ₂ + 5	4.20 ± 0.15**	4.5 ± 0.24**
Pb(Ac) ₂ + 10	4.17 ± 0.22**	4.2 ± 0.27**
Pb(Ac) ₂ + 20	4.60 ± 0.12**	5.1 ± 0.16**

Mice were challenged with 10⁸ SRBC 4 days after sensitization.

On day 5, the HA and Hy titer were assayed.

Each value is the mean ± s.e. (log₂) of 8 - 10 mice.

Significant difference from the Pb(Ac)₂ treated group (*, P < 0.05 and **, P < 0.01)

titer)는 正常群이 4.00±0.10이고 對照群인 lead acetate 投與群은 2.33±0.25인데 비하여 人蔘石油 ether 分割 5 mg/kg 投與群, 10 mg/kg 投與群 및 20 mg/kg 投與群이 各各 4.20±0.15, 4.17±0.22 및 4.60±0.12로서 對照群에 비하여 매우 顯著하게 증가하였다.

또한 赤血球溶血素價(HY titer)는 正常群이 5.3±0.06이고 對照群인 lead acetate 投與群이 1.4±0.16이나 人蔘石油 ether 分割 5 mg/kg 投與群, 10 mg/kg 投與群 및 20 mg/kg 投與群이 各各 4.5±0.24, 4.2±0.27 및 5.1±0.16으로서 對照群에 비하여 매우 顯著的 증가를 보였다.

Arthus 反應; Arthus 反應의 결과는 Table 6에서 보는 바와 같이 足趾腫脹의 두께는 正常群이 25.60±1.01 mm, lead acetate 投與群이 25.00±

Table 6. Effect of Ginseng Petroleum Ether Fraction on the Arthus Reaction on Immunosuppressed Mice by Lead Acetate

P. Ether Fract. (mg/kg/day, i.p)	Foot pad swelling thickness (mm)	FPSI
Normal	25.60 ± 1.01	15.81 ± 1.40
Pb(Ac) ₂	19.67 ± 2.03	10.85 ± 1.13
Pb(Ac) ₂ + 5	25.00 ± 2.20	15.74 ± 1.34*
Pb(Ac) ₂ + 10	28.80 ± 1.90**	19.35 ± 1.21**
Pb(Ac) ₂ + 20	22.33 ± 1.68	15.34 ± 1.19*

Foot pad swelling was measured after the intradermal challenge of 1×10^8 SRBC/ml.

FRSI = thickness of foot pad (means, after challenge-before challenge thickness)
thickness of foot pad before challenge

At 4 hours FPSI was the Arthus reaction.

Each value is the mean ± s.e. of 8 - 10 mice.

Significant difference from the Pb(Ac)₂ treated group (*, P < 0.05, **, P < 0.01)

2.20 mm, 10 mg/kg 投與群이 28.80 ± 1.90 mm이고, 20 mg/kg 投與群이 22.33 ± 1.68 mm로서 10 mg 投與群이 對照群에 비하여 매우 顯著하게 증가하였으며 이를 足蹠腫脹指數(F.P.S.I.)로 보면 正常群이 15.81 ± 1.40이고 對照群인 lead acetate 投與群이 10.85 ± 1.13인데 비하여 人蔘石油 ether 分割 5 mg/kg 投與群이 15.74 ± 1.34, 10 mg/kg 投與群

이 19.35 ± 1.21, 20 mg/kg 投與群이 15.34 ± 1.19로서 對照群에 비하여 모두 顯著하였다.

4. 生化學的 檢査所見

各實驗群을 2週間 및 4週間 飼育한 다음 측정된 生化學的 檢査 결과는 Table 7 및 Table 8과 같다. Table 7에서 보는 바와 같이 總血清蛋白濃度는 2週實驗群과 4週實驗群, 各群間에 有意性에 있는 결과를 발견하지 못했다. 그러나 albumin의 경우 2週實驗群에서 正常群이 3.91 ± 0.17 g/dl, lead acetate 投與群이 3.35 ± 0.06 g/dl이고, 人蔘石油 ether 分割 5 mg/kg 投與群이 3.08 ± 0.20 g/dl, 10 mg/kg 投與群이 3.61 ± 0.08 g/dl로서 對照群인 lead acetate 投與群에 비하여 人蔘石油 ether 分割 10 mg/kg 投與群 및 20 mg/kg 投與群에서 顯著的 증가를 보였다. 4週實驗群에서도 2週實驗群과 같이 對照群인 lead acetate 投與群에 비하여 人蔘의 石油 ether 分割投與群 모두가 매우 顯著하게 증가하였다.

Globulin의 경우, 2週實驗群에서 正常群이 3.78 ± 0.20 g/dl, lead acetate 投與群이 3.92 ± 0.08 g/dl, 人蔘石油 ether 分割 5 mg/kg 投與群,

Table 7. Effect of Ginseng Petroleum Ether Fraction on the Serum Protein on Immunosuppressed Mice by Lead Acetate

P. Ether Fract. (mg/kg/day, i.p)	Protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	Globulin (g/dl)	A/G ratio
2 weeks				
Normal	7.68 ± 0.36	3.91 ± 0.17	3.78 ± 0.20	1.03 ± 0.10
Pb(Ac) ₂	7.26 ± 0.31	3.35 ± 0.06	3.92 ± 0.08	0.85 ± 0.05
Pb(Ac) ₂ + 5	6.88 ± 0.31	3.08 ± 0.20	3.82 ± 0.14	0.80 ± 0.06
Pb(Ac) ₂ + 10	7.72 ± 0.34	3.75 ± 0.16*	3.96 ± 0.17	0.95 ± 0.08
Pb(Ac) ₂ + 20	7.08 ± 0.22	3.61 ± 0.08*	3.47 ± 0.08*	1.03 ± 0.05*
4 weeks				
Normal	7.67 ± 0.45	3.80 ± 0.10	3.87 ± 0.23	0.98 ± 0.15
Pb(Ac) ₂	8.20 ± 0.35	3.88 ± 0.10	4.32 ± 0.21	0.90 ± 0.10
Pb(Ac) ₂ + 5	9.02 ± 0.68	4.71 ± 0.06**	4.31 ± 0.18	1.09 ± 0.12
Pb(Ac) ₂ + 10	8.49 ± 0.75	4.51 ± 0.17**	4.40 ± 0.25	1.00 ± 0.11
Pb(Ac) ₂ + 20	8.09 ± 0.35	4.60 ± 0.16**	3.49 ± 0.24*	1.32 ± 0.13*

Each value is the mean ± s.e. of 8 - 10 mice.

Significant difference from the Pb(Ac)₂ treated group (*, P < 0.05, **, P < 0.01)

Table 8. Effect of Ginseng Petroleum Ether Fraction on the Alkaline Phosphatase and Cholesterol on Immunosuppressed Mice by Lead Acetate

P. Ether Fract. (mg/kg/day, i.p)	Alkaline phosphatase (U/L)		Cholesterol (mg/dl)	
	2 weeks	4 weeks	2 weeks	4 weeks
Normal	162.94 ± 14.67	126.42 ± 9.29	61.79 ± 4.09	71.14 ± 4.11
Pb(Ac) ₂	121.02 ± 15.33	109.94 ± 6.98	54.21 ± 4.47	63.02 ± 4.54
Pb(Ac) ₂ + 5	143.78 ± 5.75	133.45 ± 8.86*	53.50 ± 3.83	76.96 ± 4.74
Pb(Ac) ₂ + 10	135.32 ± 8.67	133.49 ± 7.67*	56.70 ± 2.32	70.02 ± 5.03
Pb(Ac) ₂ + 20	117.69 ± 3.34	130.19 ± 10.16	85.97 ± 5.13*	77.82 ± 5.33*

Each value is the mean ± s.e of 8 - 10 mice.
Significant difference from the Pb(Ac)₂ treated group (*, P < 0.05)

10 mg/kg 投與群 및 20 mg/kg 投與群에서 各各 3.82±0.14 g/dl, 3.96±0.17 g/dl 및 3.47±0.08 g/dl를 나타냈는 바 對照群인 lead acetate 投與群에 비하여 人蔘石油 ether 分劃 20 mg/kg 投與群에서 顯著하게 증가하였다. 4週 實驗群에서도 2週 實驗群과 같이 對照群인 lead acetate 投與群에 비해 人蔘石油 ether 分劃 20 mg/kg 投與群에서 顯著하게 증가하였다.

한편 albumin과 globulin의 比는 2週 投與群의 경우 正常群이 1.03±0.10, lead acetate 投與群이 0.85±0.05이었고, 人蔘石油 ether 分劃 5 mg/kg 投與群, 10 mg/kg 投與群 및 20 mg/kg 投與群에서 各各 0.80±0.06, 0.95±0.08 및 1.03±0.05이어서 對照群인 lead acetate 投與群과 比較하면 人蔘 ether 分劃 20 mg/kg 投與群에서 有意성이 있는 증가를 보였다. 또한 4週 投與群에서도 2週 投與群과 같이 對照群인 lead acetate 群과 比較하여 人蔘石油 ether 分劃 20 mg/kg 投與群에서 有意성이 있게 증가하였다.

Table 8에서 보는 바와 같이 血清 alkaline phosphatase는 2週 投與群에서는 正常群이 162.94±14.67 U/L이었고, lead acetate 投與群이 121.02±15.33 U/L이었으며, 人蔘石油 ether 分劃 投與群이 143.78±5.75 U/L, 10 mg/kg 投與群이 135.32±8.67 U/L, 20 mg/kg 投與群이 117.69±3.34 U/L로서 各群間에 別다른 有意성을 보이지 않았다. 그러나 4週 投與群에서 對照群인 lead

acetate 投與群이 109.94±6.98 U/L인데 반하여 人蔘石油 ether 分劃 5 mg/kg 投與群에서 133.45±8.86 U/L, 10 mg/kg 投與群에서 133.49±7.67 U/L로서 對照群에 비해 有意성이 있는 증가를 보였다.

血清 cholesterol은 2週 投與群에서는 正常群이 61.79±4.09 mg/dl, lead acetate 投與群이 54.21±4.47 mg/dl이었으며, 人蔘石油 ether 分劃 5 mg/kg 投與群이 53.50±3.83 mg/dl, 10 mg/kg 投與群이 56.70±2.32 mg/dl, 20 mg/kg 投與群이 85.97±5.13 mg/dl으로서 20 mg/kg 投與群인 lead acetate 投與群에 비해 20 mg/kg 投與群에서 有意성이 있는 증가를 보였다. 또한 4週 投與群에서 正常群이 71.14±4.11 mg/dl이었고, lead acetate 投與群이 63.02±4.54 mg/dl이었으며, 人蔘石油 ether 分劃 5 mg/kg 投與群이 76.96±4.74 mg/dl, 10 mg/kg 投與群이 70.02±5.03 mg/dl이었으며, 20 mg/kg 投與群이 77.82±5.33 mg/dl으로서 對照群인 lead acetate에 비해 20 mg/kg의 人蔘石油 ether 分劃 投與群에서 有意성이 있는 증가를 보였다.

考 察

남의 免疫毒性은 Hambach等의 報告에 의하면 胸腺依存性 抗原인 S-RBC에 의하여 抗體生産이 저하된다고 하였다. 또한 남이 B-cell보다 T-cell에 작용하여 免疫機能을 저하시키며, 低濃度에서는 IgG

가 증가하나 高濃度에서는 IgG가 감소하는 것으로 미루어 납의 免疫機能의 저하는 helper T-cell보다는 suppressor T-cell에 作用하는 것이 원인이라고 示唆하였다.^{14~16)}

本實驗에서 lead acetate의 用量에 의한 體重의 變化는 觀察되지 않아서 Koller等, Luster等の 報告와 일치하였으나 免疫臟器인 脾臟 및 胸腺의 重量이 감소하고 赤血球凝集素價 및 赤血球溶血素價 그리고 Arthus 反應이 현저하게 저하하여 體液性免疫이 억제되었음을 알았다. Hiai等은 이른바 “proistol (protein synthesis stimulating factor)”이 肝의 細胞核에서 RNA polymerase 活性을 증가시킨다고 報告하였고 Oura等은 albumin, γ -globulin과 같은 血清蛋白의 合成能을 증가시켜 生體의 免疫機能이 亢進된다고 報告하였다.^{31,32)}

體液性免疫에 관한 반응 가운데 T-dependent antigen에 대한 免疫抗體의 量을 나타내는 指標인 赤血球凝集 및 溶血反應은 緬羊赤血球에 대한 抗體와 抗原과의 반응으로 凝集 또는 溶血을 일으키는 현상이므로 血中 免疫抗體의 消長을 測定하는데 널리 사용되고 있다.

本實驗에서는 赤血球凝集素價 및 溶血素價가 납의 投與에 의하여 현저하게 저하되었고 人蔘石油 ether 分割 投與量에 따라서 赤血球凝集素價는 正常群을 上廻하였고, 赤血球溶血素價는 正常群에 거의 도달하였다. 따라서 Jie 등이 紅蔘水浸液으로 실시한 免疫修飾實驗에서의 유사한 用量依存性인 抗體生産誘發현상을 觀察하였으며, 이는 人蔘石油 ether 分割이 납에 의하여 亢進된 suppressor T-cell의 機能과 helper T-cell의 機能을 修飾한데 기인한 것으로 사료된다.³⁴⁾ Arthus 反應은 感作宿主에 있어서 惹起된 注射部位로 移住해 온 多核性白血球가 抗原-抗體複合體와 補體等이 결합된 大分子들의 食食으로 유리되는 lysosomal enzyme에 의하여 발생되는 抗體媒介型 過敏反應현상으로 對照群에서는 Arthus 反應이 현저하게 저하되었으나 5 mg/kg, 20 mg/kg 人蔘石油 ether 分割投與群에서 正常群과 거의 동일한 數値로 회복되었고, 특히 10 mg/kg 投與群에서 현저한 免疫亢進作用을 나타낸 免疫修飾현상을 觀察하

였다.

이상의 結果를 종합하면 납에 의한 體液性免疫機能저하가 人蔘石油 ether 分割物에 의하여 修飾되어 부활된 것으로 사료된다.

生化學的檢査所見에서 總血清蛋白의 量은 有意性을 발견하지 못하였으나 albumin의 量의 증가가 4週投與群에서 觀察되어 人蔘石油 ether 分割에 의한 作用이라고 사료된다. alkaline phosphatase는 肝, 膽 및 骨芽細胞의 異常有無를 나타내는 지표인 바 本實驗에서는 對照群에서 현저한 감소가 觀察되었으나 人蔘石油 ether 分割에 의하여 正常群과 近似하게 回復되었다.

血清 cholesterol 量은 人蔘石油 ether 分割의 영향이 5 mg/kg, 10 mg/kg 2週投與群에서는 큰 변동이 없었으나 20 mg/kg 投與群에서는 그 測定値가 크게 증가하였으며 4週投與群에 있어서는 대체적으로 증가하고 특히 20 mg/kg 投與群에서 有意性이 있게 증가하였는 바 납의 腎毒作用으로 인한 血清 albumin 値의 증가와 관련시켜 생각할 때, 血清 總 cholesterol 値의 증가는 人蔘石油 ether 分割이 납의 腎毒性을 強化하는 것으로 사려될 수 있다고 하겠다.^{35~38)}

以上 本實驗의 免疫學的檢査, 生化學的檢査所見을 종합하면, 납의 免疫毒性을 人蔘石油 ether 分割 10 mg/kg 投與群이 5 mg/kg, 20 mg/kg 投與群보다 현저하게 저하시켰고, 특히 20 mg/kg 投與群에서는 免疫毒性을 增強시켰음을 觀察하였다. 이는 人蔘石油 ether 分割이 mouse의 sarcoma 180 Adenocarcinoma 755에 대하여 抗癌作用이 있으나 毒性도 強하다는 Lee 및 Hwang의 報告를 想起할 수 있었고 이에 대한 研究가 장차 더 進行되어야 한다고 사료된다.^{39,40)}

結 論

Mouse에 있어서 납의 免疫毒性에 미치는 人蔘石油 ether 分割의 影響은 다음과 같다.

1. 납에 의하여 저하된 體液性免疫을 전반적으로 회복 내지 強化시켰다.

2. 납에 의하여 저하된 血清의 A/G 比를 回復 내지 強化시키는 傾向을 보였다.
3. 납에 의하여 低下된 血清 alkaline phosphatase의 活性을 回復시켰고 血清 總 cholesterol 値를 回復 내지 充進시켰다.
4. 5 mg/kg, 10 mg/kg 投與群은 납에 의한 脾臟, 胸腺 및 肝臟의 病變을 억제하였으나 20 mg/kg 投與群은 強化시켰다.

參 考 文 獻

1. Sasa, S., Granick, J.L., Granick, S., Kappas, A., & Levere, R. (1973), Studies in lead poisoning. I. Microanalysis of erythrocyte protoporphyrin levels by spectrofluorometry in the detection of chronic lead intoxication in the sub-clinical range. *Biochem. Med.* 8, 135~148.
2. Roels, H., Buchel, J. P., Lauwerys, R., Hubermont, G., Bruaux, P., Claeys-Thoreau, F., LaFontaine, A., & Vanoverschelde, J. (1976), Impact of air pollution by lead on the heme biosynthetic pathway in school age children. *Arch. Environ. Health* 31, 310~316.
3. Piomelli, S., Lamola, A. A., Poh-Fitzpatrick, M. B., Seaman, C., & Harber, L. (1975), Erythropoietic protoporphyria and Pb intoxication: The molecular basis for difference in cutaneous photosensitivity. I. Different rates diffusion of protoporphyrin from the erythrocytes. both in vivo and in vitro. *J. Clin. Invest.* 56, 1519~1527.
4. Grandjean, P. (1978), Widening perspective of lead toxicity. A review of health effects of lead exposure in adults. *Environ. Res.* 17, 303~321.
5. Lilis, R., Fischbein, A., Eisenger, J., Blumberg, W. E., Diamond, S., Anderson, H. A., Rom, W., Rice, C., Sarkozi, L., Kon, S., & Selikoff, I. J. (1977), Prevalence of lead disease among secondary lead smelter workers and biological indicators of lead exposure. *Environ. Res.* 14, 225~285.
6. Lancranjan, I., Papesca, H., Gonescu, O., Kepsu, I., & Serbanescu, M. (1975), Reproductive ability of workmen occupationally exposed to lead. *Arch. Environ. Health* 30, 396~401.
7. Ferm, V. H., & Carpenter, S. J. (1967), Developmental malformations resulting from the administration of lead salt. *Exp. Mol. Pathol.* 7, 208~213.
8. Goyer, R. A. (1968), The renal tubule in the lead poisoning. I. Mitochondrial swelling and aminoaciduria. *Lab. Invest.* 19, 71~77.
9. Goyer, R. A. (1971). Lead and the kidney. *Curr. Top. Pathol.* 55, 147~176.
10. Alvares, A. P. (1978). Interactions between environmental chemicals and drug biotransformation in man. *Clin. Pharmacokin.* 3, 462~477.
11. Batuman. V., Maesaka, J. K., Haddad, B., Tepper, E., Landy, E., & Wedeen, R. P. (1981), The role of lead in gout nephropathy. *New Eng. J. Med.* 304, 520~523.
12. Wedeen, R. P., Maeka, J. K., Weiner, B., Lipat, G. A., Lyons, M. M., Vitale, L. F., & Joselow, M. M. (1975), Occupational lead nephropathy. *Am. J. Med.* 59, 630~641.
13. Silbergeld, E. E., & Adler, H. S. (1978), Subcellular mechanism of lead neurotoxicity. *Brain Res.* 148, 451~467.
14. Lilbergeld, E. K., & Goldberg, A. M. (1973), A lead-induced behavior disorder. *Life Sci.* 13, 1275~1283.
15. Koller, L. D., Exon, J. H., & Roen, J. E. (1976). Humoral Antibody Response in mice after single dose exposure to lead or cadmium. *Proc. of the Society for Experimental Biology and Medicine.* 150, 339~342.
16. Luster, M. I., Faith, R. E., & Kimmel, C. A. (1978). Depression of humoral immunity in rats following chronic developmental lead exposure. *J. of Environ. Pathol. and Toxi.* 1, 397~402.
17. Hambach, A., Stiller-Winkler, R., Oberbarnscheidt, J., und Ewers, U. (1983). Sind suppressor-T-zellen die primären zellen der immunotoxischen wirkungen von blei? *Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B.* 178, 316~328.
18. Hong, Sa Ack, & Cho, Hang Yong. (1974). Pharmacological actions of Ginseng. *Korean Ginseng Science Symposium, Korean Soc. Of Pharmacognosy*, 113~139.

18. Chang, Y. S., Park, C. I., & Noh, H. I. (1980). The Effect of Panax Ginseng on the postoperative radiation complication in cervical cancer patients. *Proc. of the 3rd International Ginseng Symposium*, (Korea, Sept, 8~10). 197~205.
19. Yonezawa, M., Takeda, A., & katoh, N. (1980). Restoration of radiation injury by Ginseng Extract. *Proc. of the 3rd International Ginseng Symposium*, (Korea, Sept. 8~10). 17~20.
20. Yun, T. K., Yun, Y. S., & Han, I. W. (1980). An experimental study on tumor inhibitory effect of red Ginseng in mice and rats exposed to various chemical carcinogens. *Proc. of the 3rd International Ginseng Symposium* (Korea, Sept. 8~10), 87~113.
21. Kim, Y. Y. (1983). Studies on the detoxicating effect of water extracts of Korea Ginseng Radix in lead poisoning. Choongahng Univ. 1983 Theses Collection XXVII. *Natural Sciences*, 183~194.
22. Ahn, Y. K., Ku, J. D., Yu, H. M., Jung, J. K., & Kim, J. Y. (1985). The Effect of Korean Ginseng on the immunotoxicity of Mitomycin C. *Program of the 34rd Annual Convention of the Pharmaceutical Society of Korea*. 64.
23. Ahn, Y. K., Shin, H. K., Sun-woo, Y., Jung, J. K., & Kim, J. Y. (1985). The Effect of Korean Ginseng on the immunotoxicity of Benzopyrene. *Program of the 34rd Annual Convention of the Pharmaceutical Society of Korea*. 64.
24. Ha, T. Y., & Rhee, H. K. (1981). Effect of inosiplex on cellular and humoral immune response. *J. Kor. Soc. Microbiol.* **1**, 57~64.
25. Ha, T. Y., Lee, H. K., & Song, Y. K. (1981). Modulation of immune response by Cimetidine. *J. Kor. Soc. Microbiol.* **16**, 49~55.
26. Kim, K. Y., & Ha, T. Y. (1979). Effect of Cyclophosphamide Administration after stimulation with Phytohemagglutinin on immune response in mice. *J. Kor. Soc. Microbiol.* **14**, 71~77.
27. 水野映二等, 臨床病理(1971). *Biuret method.* **19**, 427.
28. Doumase et al, (1971). *Clin. Chim. Acta.* **31**, 87.
29. Kind and King, (1954). *J. Clin. Path.* **7**, 322.
30. Allain, C. C. et al, (1974). *Clin. Chem.* **20**, 470.
31. Hiai, S., Oura, H., Tsukada, K., & Hirai, Y. (1971). Stimulating Effect of Panax Ginseng extract on RNA Polymerase activity in rat liver nuclei. *Chem. Pharm. Bull.* **19**, 8, 1656~1663.
32. Oura, H., Nakashima, S., & Tsukada, K. (1972). Effect of Radix Ginseng extract on serum protein synthesis. *Chem. Pharm. Bull.* **20**, 5, 980~986.
33. Kim, J. H. (1983). Immunobiological studies in mice treated with chemical carcinogen 3-Methylcholanthrene. *Dept. of Vet. Med. Jeonbuk Natnl. Univ. Graduate School*.
34. Jie, Y. H., Cammisuli, S., & Baggiolini, M. (1984). Immunomodulatory effects of Panax Ginseng C, A. Meyer in the mouse. *Agents and Actions*, **15**, 3/4, 386~391.
35. De Bruin, A. Serum protein changes. *Biochemical toxicology of environmental agents. Elsevier/North-Holland Biomedical press.* (1966) 819~849.
36. 齊藤太郎編(1979). 臨床化學検査 VI 卷 臨床化學検査法. 44~71.
37. Hook, J. B. (1981). Mechanisms of renal toxicity. *Proc. of the Symp. on Chem. Indices and Mechanisms of Organ-directed toxicity.* 45~53.
38. Goyer, R. A. (1981). The nephrotoxic effects of lead. *Proc. of the International Symp. on Nephrotoxicity.* 338~348.