

인삼 엑기스의 경구 면역 관용에 관한 연구

배 만 종

경산대학교 식품과학과

Induction of Immunological Tolerance by Treatment of Ginseng Extract

Man-Jong Bae

Dept. of Food Science, Kyungsan University, Kyungsan 714-240, Korea

Abstract

In order to develop new bioactive functions ginseng extract, it was studied whether the ginseng extracts on the induction of immunological tolerance in mice. Oral immunologic tolerance was induced by the secondary exposure of egg albumin + alum following gastrointestinal exposure with egg albumin in mice, and the effect on anti EA antibody in blood, T cell subset in spleen were investigated. The results obtained were as follows. EA group and EA + GE group was capable of conferring tolerance, contained a profound for 5 weeks experimental but saline group restricted to induce tolerance. GE group did not show the activity of tolerance by the first immunogens exposure, but induced the tolerance by the secondary exposure. And also spleen T cells, CD 8⁺ and CD 4⁺ were decreased. These results suggested that ginseng may affect the induction of immunological tolerance, which may be associated proliferative response of CD 4⁺ and CD 8⁺ in splenocyte.

Key words : oral tolerance, ginseng extract, T-cell subset, anti-EA antibody

서 론

항원을 경구 섭취한 후 동일한 항원으로 면역을 유도하면, 특이적으로 그 항원에 대해서 전신성 면역반응이 억제되는 것을 경구 면역관용(oral tolerance)이라 한다^{1~3)}.

식품의 섭취 시 식품성분이 항원으로 작용하여 이에 대한 면역 과민증(알레르기)을 유발할 수 있는 가능성이 있다. 그러나 통상 경구적으로 섭취된 식품 항원에 대해서 강력한 알레르기 반응이 야기되지 않는 이유는 이러한 경구면역 관용이 적용하고 있기 때문인 것으로 알려져 있으며, 생체 내에서 면역억제에 관여하는 인자들은 항원 IgA 복합체⁴⁾, 항체⁵⁾, suppressor T 세포^{6, 7)} 등인 것으로 보고되고 있다. 식품성분 중에 함유되어 있는 toxin이나 사포닌 같은 것들은 세포막 기능을 변화시

킴으로 해서 투과성이 항진되든지, 항원 성분의 흡수를 높이는 것으로 알려져 있다.

최근에는 알레르기나 자가 면역질환 등 면역계의 이상으로 발증하는 질환이 급증하고 있다. 이들 질환을 보다 근원적으로 치료하기 위해서 식품 단백질 및 펩타이드를 이용해서 면역관용을 유도해서 면역 과민증을 억제하는 방법이 개발되고 있다⁸⁾. 우리나라에서는 신생아에 초유 접촉 전에 인삼 엑기스를 먹여서 감염 저항력 및 체질을 높인다고 하는 민간요법이 널리 행해져 오고 있다. 인삼의 효과에 관한 논문^{9~11)}은 다수 보고되고 있으나 면역관용과 관련된 연구는 그다지 알려져 있지 않다.

저자들은 연구 초기에 고려 인삼의 식품학적 측면에서 연근별, 산지별로 지질 및 단백질의 특성을 분석한 바 있으며¹²⁾, 또한 인삼과 saponin의 비만 억제 효과와 간에서의 지방축적을 억제하는 연구 결과를 보고한

바 있다¹³⁾.

본 연구는 egg albumin(EA)을 경구 면역관용 유발원으로 인삼 엑기스가 경구면역 관용 하에서 혈중 항 EA-항체, 체장 T 세포 subset를 분석 조사함으로써 T 세포 분화와 기능에 어떠한 영향을 미치는가를 해석하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 동물

인삼 엑기스 및 인삼 saponin은 한국 담배 인삼공사로부터 구입하였으며, 실험동물은 6주령된 BALB/C(20±5g)마우스를 암수 구별 없이 사용하였다.

2. 경구관용을 위한 면역방법

실험군은 5마리를 한 군으로 하여 4군으로 다음과 같이 구분하였다. 즉, Saline 군(0.5mg /20g), Egg albumin(EA ; 20mg /0.5ml saline /20g)군, Ginseng extract(Ext ; 8.3mg /0.5ml saline /20g)군, EA + GE(20mg /0.5ml saline /20g)군으로 구분하였다.

항원으로써 EA를 생리식염수(0.15M NaCl)에 용해한 뒤 마우스 체중 20g을 기준으로 20mg /0.5ml로 단독 또는 항원과 엑기스의 혼합 용액을 1일 2회 3일 동안 연속으로 경구투여 하였다. 마지막 경구 투여 1주일 후에 EA 1 μ g과 alum 혼합액을 복강 주사해서 1차 면역하고 4주 후 동일한 방법에 의해서 2차 면역하였다.

3. 항 EA-항체 분석

혈청 속의 항 EA-항체를 분석하기 위해서 혈액을 1주 간격으로 꼬리 정맥으로부터 채혈 후 3,000rpm 냉장 원심분리 해서 얻은 혈청 속의 항 EA-IgG를 ELISA법¹⁴⁾으로 측정하였다. U형 96 well plate에 1well 당 5 μ g의 EA를 넣고 실온에서 하룻밤 방치해서 코팅하였다.

PBS 용액으로 3회 세척 후 2% FBS-PBS로 blocking 한 다음 Goat anti mouse Ig-peroxidase를 사용해서 1시간 반응시킨다. 반응된 것을 3회 세척한 후 OPD(O-phenyl enediamine Dihydrochloride) 발

색 과정을 거친 다음 ELASA leader(Corona Electric Co., Ibaraki, Japan)를 이용하여 측정하였다.

4. T cell subset 분석

T cell에 미치는 영향을 조사하기 위해서 마우스에 40mg /20g의 인삼 엑기스를 복강 주사한 다음 3주 후, 비장을 무균적으로 적출해서 MEM액내 현탁시킨다. 이것을 MEM으로 1,500rpm에서 10분 3회 세척한 것을 비장 부유액으로 조제하고 항CD 4⁺, CD 8⁺ 항체를 이용해서 fluorescence activated cell sorter(Becton Dickinson, Sunnyvale, CA, USA) 해석을 행하였다.

결과 및 고찰

1. 인삼 엑기스에 의한 경구 관용의 유도

마우스에 엑기스를 경구적으로 3일간 연속 투여하고 이와 동시에 항원인 EA를 경구 투여한 다음 경구 면역관용의 성립을 조사하기 위해 1, 2차 면역을 유도한 실험동물에 대한 항 EA 항체를 조사한 결과는 Fig. 1

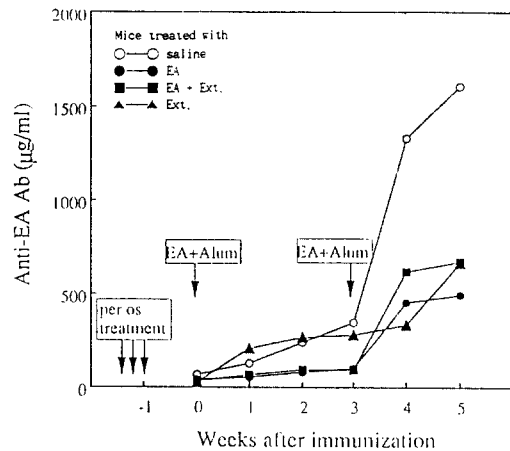


Fig. 1. Effect of oral administration of ginseng extract on the specific antibody production in mice.

- : Saline group.
- : Egg albumin group.
- : Egg albumin+Ginseng extract group.
- ▲-▲ : Ginseng extract group.

과 같다.

경구적으로 식염수를 투여한 동물에서는 전형적인 1차 면역반응이 일어났지만 EA 20mg을 경구 투여해 둔 마우스에서는 항체 생산이 거의 야기되지 않았다. 이는 EA에 의한 경구관용의 결과이며, EA의 면역관용에 인삼 엑기스가 아무런 영향을 미치지 않음이 관찰되었다. 인삼 엑기스만을 투여한 Ext. 군에서는 면역관용이 성립되지 않았음을 확인할 수 있었다.

3주일 째에 2차 면역을 유발시킨 결과 4, 5주에서 특이할 만한 변화를 관찰할 수 있었다. 즉 인삼 엑기스를 투여한 Ext. 군에서 EA를 경구투여한 군들의 수준에 까지 면역관용이 성립되었다. 이러한 현상은 2차 면역을 통해서 Ext.가 면역관용의 성립 및 면역관용에 강력한 영향을 미침을 확인할 수 있었다. Challacombe 등은 경구적으로 항원을 섭취한 rats와 마우스를 이용한 실험에서 혈청 항체가 거의 생성되지 않음을 관찰하였다^{15, 16)}.

경구에 의한 면역관용 유발에는 gut-associated lymphoid tissue(GALT), Peyer's patches(PP), mesenteric lymph nodes(MLN)이 중요한 역할을 담당하고 있다^{17, 18)}. IgA를 생산하는 전구 세포가 GALT에서 분비장소인 장관으로 옮겨지고 장관에서 항원의 제거 과정에 IgA 항체가 생산되고 이 때 면역억제 기구와 분비 항체 유도의 공동작용이 유도되는 것으로 추측되고 있다.

용해성 단백 항원의 경구식이에 의한 면역관용 유발과 유지는 항원-IgA 복합체를 포함한 혈청에서의 억제인자⁴⁾, 항체⁵⁾, suppressor T 세포^{6, 7)}에 의한 것으로 알려지고 있는 바, 본 실험에서는 인삼 Ext.가 EA-항체 생산의 억제에 유의할 만한 영향을 주고 있음을 확인할 수 있었다.

2. 인삼 엑기스의 복강 주사에 의한 체장 T cell subset의 변화

마우스에 인삼 엑기스를 복강 주사한 후 척추 탈골사 시켜, 비장에서 채취해서 항 CD 4⁺, 항 CD 8⁺를 행한 결과는 Fig. 2이다. CD 4⁺ T 세포는 25.1%에서 17~18%로, CD 8⁺ T 세포는 12.7%에서 7.5%로 감소되었다.

Playfair 등¹⁹⁾은 glycoside saponin이 malaria에

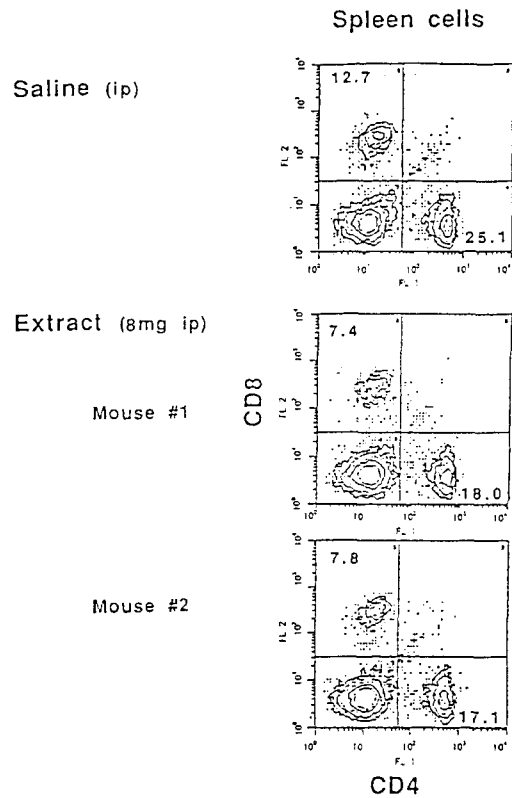


Fig. 2. Effect of intraperitoneally administration of ginseng extract on splenic T cell subsets in mice.

대해서 면역성이 뛰어난 adjuvant임을 발표한 바 있다. 또한 Heath²⁰⁾ 등은 마우스를 대상으로 한 실험에서 adjuvant saponin이 림프구 이동에 강력하게 영향을 주어 항원을 주사한 자리에 림프구 homing이 증가됨을 확인했으며, 이 때 T 세포는 거의 대부분이 CD 8⁺ 이었고, CD 4⁺는 감소하였다. 이러한 CD 8⁺이 증가한 이유로 그들은 실험에 사용된 항원이 바이러스성 항원 때문인 것으로 판단하였다.

한편 CD 4⁺ 결손 마우스에서는 saponin이 면역성을 상실하게 되는데 이러한 메카니즘의 이면에는 saponin이 MHC class II 발현에 강력하게 영향을 주어 결국 INF- γ 유리를 촉진하기 때문인 것으로 설명하고 있다²¹⁾.

본 실험에서 인삼 Ext. 투여군에서 2차 면역 후 CD 4⁺와 CD 8⁺ 감소현상은 면역관용이 유발 및 유지되고 있음을 확인할 수 있다. 또한 본 실험을 통해서 T 세포가 면역관용에 관여하고 있다는 사실과 특히 CD 4⁺ T 세포와 CD 8⁺ T 세포 모두 관여하고 있음을 보여주고 있다.

본 연구에서 인삼 Ext.가 면역관용의 유발 및 영향을 확인할 수 있었으며, 이 과정을 더욱 명확하게 설명하기 위해서는 인삼의 성분별 특히 인삼 saponin과 인삼 단백질을 대상으로 해서 인삼 단백질의 분자 구조와 면역관용 유도 능력과 알레르기 억제능력의 연구 진행이 요구된다.

요 약

경구면역 관용은 egg albumin 경구 투여 후 2차에 걸쳐서 EA + Alum를 복용 투여하여 유발시켰다. 인삼 엑기스가 경구면역관용 유발과정에 혈중 항 EA 항체, 비장 T cell subset에 미치는 영향을 조사하기 위해서 수행되었으며 그 결과는 다음과 같다.

생리식염수군은 면역관용이 일어나지 않았으며 EA + Ext.는 면역관용이 5주 까지의 실험을 통해서 지속적으로 유지되고 있음을 확인할 수 있었다.

인삼 엑기스 단독에 의해서는 1차 면역응답에서 면역 관용의 유도가 장애되었으나, 2차 면역 이후에서는 면역관용을 확인할 수 있었다.

또한, 비장 T 세포 CD 8⁺, CD 4⁺ subset가 감소하였다. 이는 인삼 엑기스의 면역관용에는 T 세포의 분화 증식에 영향을 미치고 있음을 보여주고 있으며, 특히 세포의 분화 억제에 의한 면역관용임을 추측케 하고 있다.

참고문헌

1. Strobel, S. and Ferguson, A. : Oral tolerance-induction and modulation. *Klin. Paediatr. ss.* 197, 297(1985).
2. Pathirana, C., Gouding, N., Gibney, M., Pitts, P., Taylor, T. : immuno tolerance produced by pre- and postnatal exposure to dietary antigens. *Int. Arch. Allergy appl. Immunol.*, 66, 114(1981).
3. Johnson, R., Labrooy, J., Shearman, D., Davidson, G. : The effect of diet on systemic immuosponses to wheat gliadin. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, 63, 299(1985).
4. Andre, C., Heremans, J., Vaerman, J., Cambiaso, C. : A mechanism for the induction of immunological tolerance by antigen feeding : antigen-antibody responses after antigen feeding. *Cell Immunol.*, 40, 186(1978).
5. Kagnoff, M. : Effect of antigen-feeding on intestinal and systemic immune responses. III. Antigen-specific serum-mediated suppression of humoral antibody responses after antigen feeding. *Cell Immunol.*, 40, 186(1978).
6. Ngan, J. and Kind, L. : Suppressor T cells for Ig G in Peyer's patches of mice made tolerant by the oral administration of ovalbumin. *J. Immunol.*, 120, 861(1979).
7. Richman, L., Chiller, J., Brown, W., Hanson, D. and Vaz, N. : Enterically induced Immunologic tolerance. I. Induction of suppressor T lymphocytes by intragastric administration of soluble proteins. *J. Immunol.*, 121, 2429 (1978).
8. 上野川修 : アレルギー低減化食品を考える. *食品工業*, 37~41(1992).
9. 具滋賢 : 인삼 saponin이 실험적 동맥경화증 유발에 미치는 영향. *J. Hanyang Med. Coll.*, 3(2), 273(1983).
10. 임창진, 박은희, 이동권, 이송재, 홍순근 : 흰쥐의 혈청 지단백 분포에 미치는 영향. *Korean J. Ginseng Sci.*, 10(1), 114(1986).
11. Jae-Ho Do., Sang-Dal Kim and hiromichi, O. : Effect of acid hydrolyzates of ginseng saponins on lipid metabolism in rat epidymal adipose tissue. *Korean J. Ginseng Sci.*, 6(2), 123 (1982).
12. 최청, 윤상홍, 배만중, 안봉진 : 한국 인삼의 연근

- 별 단백질 및 아미노산 조성. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 17(1), 1(1985).
13. 배만중, 성태수, 최청 : 인삼분획 성분들이 고지방 식이에 의해서 유도된 비만 rats에서 혈장, 지방성분 및 분변 steroids에 미치는 영향. *Korean J. Ginseng Sci.*, 14(3), 404(1990)
 14. Engvall, E. and Perlman, P. : Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochimistry*, 8, 871(1971)
 15. Challacombe, S. and Tomasi, T. : Systemic tolerance and secretory immunity after oral immunization. *J. Exp. Med.*, 152, 1459(1980)
 16. Hanson, D., Vas, N., Maia, L. and Lynch, J. : Inhibition of specific immune responses by feeding protein antigens. III. Evidence against maintenance of tolerance to ovoalbumin by orally induced antibodies. *J. Immun.*, 123, 2337(1979)
 17. Mattingly, J. and Waksman, B. : Immunologic suppression after oral administration of antigen. I. specific suppressor cells formed in rat Peyer's patches after oral administration of sheep erythrocytes and their systemic migration. *J. Immunol.*, 121, 1878(1978)
 18. Ngan, J. and Kind, L. : Suppressor T cells for Ig E and Ig G in Peyer's patches of mice made tolerant by the administration of ovalbumin. *J. Immunol.*, 120, 861(1978)
 19. Playfair, J. and Desouza, J. : Vaccination of mice against malaria with soluble antigens effect of detergent, route of injection and adjuvant. *Parasite. Immunol.*, 8, 409(1986)
 20. Heath, A. Nyan, O., Richards, C. and playfair, J. : Effect of interferon gamma and saponin on lymphocyte traffic are inversely related to adjuvanticity and enhancement of MHC class II expression. *International Immunology*, 3, 285(1991)
 21. Heath, A., Devey, M., Brown, I. and Playfair, J. : Interferon gamma as adjuvant in immunocompromised mice. *Immunology*, 67, 520(1989)
-
- (1996년 6월 11일 수리)