

홍삼 추출물의 임파구 증식 및 활성화 촉진효과

이혜연 · 이한수

강원대학교 자연과학대학 생명과학부
(1997년 10월 11일 접수)

Stimulatory Effect of Korean Red-Ginseng Extract on the Proliferation and Cellular Activity of Lymphocytes

Hye-Yeoun Lee and Hansoo Lee

Division of Life Sciences, College of Natural Sciences,
Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

(Received October 11, 1997)

Abstract : The effect of Korean red-ginseng extract on the proliferation and cellular activity of mouse B and T lymphocytes was examined *in vitro*. Both water and ethanol extract from red-ginseng increased the growth of normal B and T lymphocytes 1.5~2.5-folds. Saponin and polysaccharide fractions from ginseng extract also stimulated the proliferation of normal lymphocytes much higher than several well-known immunostimulators. B and T lymphoma cell lines responded to the ginseng extract and fractions by growth, too, while non-lymphoid cell lines did not. Immunoglobulin production of unprimed B lymphocytes was little affected by the ginseng extract and fractions, though the ethanol extract slightly enhanced IgG production of B lymphocytes. When cytolytic activity of T lymphocytes against tumor cells was induced *in vitro*, both of the saponin and polysaccharide fractions and the ginseng ethanol extract increased the cellular activity of cytotoxic T lymphocytes 4~5-folds, while the ginseng water extract did not. Especially, the saponin fraction exhibited 10-times higher stimulatory effect on the cytolytic activity of cytotoxic T cells than the ethanol extract and the polysaccharide fraction did. These results suggest that Korean red-ginseng contains potent immunomodulating components to stimulate the proliferation of B and T lymphocytes and the cellular activity of cytotoxic T lymphocytes.

Key words : Ginseng, lymphocytes, cell proliferation, immunoglobulin, cytolytic activity.

서 론

면역체계에서 중추적인 역할을 하는 B, T 임파구는 세포 분화(differentiation) 및 증식(proliferation) 과정을 거치면서 활성화되게 된다. 이들의 초기 활성화는 이중 단백질들이나 미생물, 종양세포, 바이러스 감염세포 등과 같은 면역원들이 임파구의 세포막 수용체들과 특이적 결합을 통하여 세포내로 일련의 신호를 줌으로써 개시된다. 이러한 임파구의 초기 활성화와 관련된 면역세포의 신호전달 과정에 대한 분자

단계의 연결과 조절현상들이 최근에 밝혀지면서, 천연 및 합성 물질들을 대상으로 면역조절 물질을 탐색, 개발하려는 시도가 활발히 진행되고 있다. 이들 중에 식물의 lectins,¹⁾ 세균의 lipopolysaccharides/peptidoglycans 및 대사산물들,²⁾ peptide hormone,²⁾ muramyl peptide,³⁾ bestatin,⁴⁾ lipopeptide,⁵⁾ thymic peptide,⁶⁾ leukocyte dialysates⁷⁾ 등과 immunoglobulin, plasma proteins, casein 등에서 유래된 작은 peptide들^{8, 13)}이 면역세포의 활성화를 촉진하는 것으로 보고되었다. 이러한 물질들은 면역세포의 증식

을 촉진하는 효과 외에도 항체생성, cytokine 생성, phagocytosis 능력 등을 증가시켜 면역기능을 강화시키는 것으로 알려져,¹⁰⁾ 면역결핍에 대한 면역증진 치료제나 백신첨가제(adjuvant)로 현재 사용되고 있거나 조만간 사용될 예정이다. 이러한 물질들 외에도 천연물이나 세포생성물에는 많은 종류의 면역활성 조절물질이 함유되어 있을 것으로 추정된다.

한편, 자연강장제로 널리 사용되고 있는 인삼이 생체의 면역기능을 강화시킬 가능성이 높다는 것이 근래에 보고되었다. 특히, 배양상의 대식세포(macrophage)나 자연사세포(natural killer cell)의 경우 인삼의 saponin 또는 lipopolysaccharide 성분들에 의해 종양세포나 바이러스 감염세포에 대한 치사활성이 증가한다고 보고되었다.¹⁵⁾ 또한, 인삼 추출물을 쥐에 투여하였을 때 항체생성량이 증가하였으며, 혈장 단백질의 생합성이 자극되면서 특히 β/γ -globulin의 양이 증가되었다고 보고되었다.¹⁹⁾ 아울러, 인삼 추출물을 IL-2와 함께 투여했을 때 흉선세포(thymic cell)는 IL-2 단독 투여시보다 더 빠른 증식을 보였다.²⁰⁾ 이러한 연구결과들은 인삼에는 면역기능의 중추 세포인 임파구의 증식과 활성을 증가시킬 수 있는 성분이 함유되어 있을 가능성을 제시하는 것이다. 그러나, 현재 인삼의 B, T 임파구 활성화 촉진효과는 세포단계에서 구체적으로 검증되지 않고 있다. 이에 본 연구에서는 인삼이 B, T 임파구 세포의 증식과 활성에 직접적으로 발휘하는 효능을 배양세포 수준에서 검증하기 위하여 생쥐(mouse)의 지라(spleen)나 림프절(lymph node)에서 얻은 정상적인 B, T 임파구 각각의 세포증식과 세포활성에 홍삼의 추출물이나 saponin, polysaccharide 성분 등이 어떠한 영향을 미치는지를 조사 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

Inbred BALB/C(H-2^d) mouse(8~12주)를 한림대학교로부터 분양받아 임파구를 분리하는데 사용하였다. 홍삼의 물 추출물, 70% ethanol 추출물, total saponin 분획, polysaccharide 분획 등은 한국인삼연초 연구원으로부터 공급 받아 사용하였다. RPMI 배양액 및 fetal calf serum은 Gibco-BRL 사(Grand Island, NY, USA), [³H]-thymidine은 DuPont-NEN

사(Boston, MA, USA), nitrocellulose membrane은 Millipore 사(Bedford, MA, USA), Cytotoxic Assay Kit는 Promega 사(Madison, WI, USA)로부터 각각 구입하여 사용하였다. 이밖에 본 실험에 사용된 시약들은 Sigma 사(St. Louis, Mo, USA)로부터 구입된 제품들이다.

2. 생쥐의 B, T 임파구의 분리

생쥐(mouse)로부터 얻은 spleen이나 lymph node를 PBS(phosphate-buffered saline)로 씻은 후 각각을 3 ml의 10% fetal calf serum이 포함된 RPMI 배양액 속에서 절제하여 작은 절편을 만들었다. 5 ml 주사기의 plunger로 petri-dish 바닥에 여러번 짓이기고 이를 19G-needle을 가진 5 ml 주사기에 넣고 여러번 pumping하였다. 이를 200 μ m nylon-screen을 통과시키고 RPMI 배양액을 더 첨가해서 1,000 rpm으로 10분간 원심분리하였다. 침전된 세포들을 RPMI 배양액으로 한번 더 씻은 다음, 0.83% ammonium chloride를 5 ml 넣고 37°C CO₂ incubator에서 5분간 배양한 후 원심분리하여 적혈구를 제거하였다. 죽은 세포들을 제거하기 위해 세포부유액을 3 ml의 Ficoll-paque 용액 위에 얹은 후 3,000 rpm으로 15분간 원심분리한 다음, 상층액을 모으고 RPMI 배양액으로 세포들을 씻었다. 이들 세포를 glass petri-dish에 넣고 37°C에서 1시간 동안 배양한 후 glass petri-dish에 흡착된 대식세포(macrophage)와 같은 accessory cell들을 제거하고 상층의 임파구들만 모았다. 이들을 nylon-wool column에 넣고 column을 통과한 T 임파구와 nylon-wool에 부착한 B 임파구들을 각각 분리하였다.²⁴⁾

3. 임파구의 세포증식률 조사

96-well microplate에 B 또는 T 임파구 세포들($1-2 \times 10^6$ cells/well)을 넣고 serum-free 배양액에서 24시간 배양한 후, 각 홍삼 추출물, saponin 분획, polysaccharide 분획 등을 농도를 달리하여 첨가하고 24시간 추가 배양하였다. 각 well에 [³H]-thymidine (50 μ Ci/ml)을 20 μ l 씩 넣고 12시간 배양한 후, nitrocellulose membrane에 수확된 세포들을 PBS로 5회 세척하였다. Membrane에 수확된 세포들의 방사능 세기를 liquid scintillation counter로 측정하여 임파구 세포의 thymidine uptake 정도를 조사 하였다.²⁴⁾

4. B 임파구의 항체생성수준 측정

96-well microplate의 각 well에 anti-mouse po-

lyvalent(또는 IgG-specific) immunoglobulin(5 µg/ml)을 50 µl 씩 넣고 37°C에서 2시간 coating한 후, PBST(0.05% Tween 20가 포함된 PBS)로 3회 세척하였다. 각 well을 1% bovine serum albumin 용액으로 1시간 처리하고 씻은 후, 앞서의 3항에서 처럼 B 임파구에 각 홍삼 추출물, 분획 등을 넣고 24시간 배양한 다음 세포배양 상층액을 모아서 이를 각 well에 50 µl를 넣고 2시간 반응시켰다. Plate를 PBST로 5회 씻은 후, anti-mouse polyvalent(또는 IgG-specific) immunoglobulin-peroxidase conjugate(1:5,000 희석) 50 µl를 넣고 1시간 반응시킨 다음, PBST로 5회 세척하였다. 각 well에 1.0 mM ABTS {2,2'-Azino-di(3-Ethylbenzthiazoline-6-Sulfonic Acid)}, 0.05 mM H₂O₂, 25 mM sodium phosphate(pH 7.0) 등이 포함된 효소반응액 50 µl를 넣고 상온에서 15분간 반응시킨 후, 2% SDS(50 µl)를 넣어 발색반응을 정지시킨 다음, 405 nm에서의 흡광도를 ELISA reader를 사용하여 측정하였다.²⁵⁾

5. 세포독성 T 임파구의 암세포 파괴활성 측정

생쥐의 지라에서 분리한 T 임파구들(1-2×10⁶ cells/well)을 1 mM sodium pyruvate, non-essential amino acids, 그리고 각 홍삼 추출물, 분획들을 96-well microplate에 넣고 5일간 37°C에서 배양하여 세포독성 T 임파구(cytotoxic T lymphocyte, CTL)의 활성을 유도하였다. 각 well에 mouse lymphoma인 YAC-1 세포(1-2×10⁴ cells)를 첨가하고 37°C에서 4시간 배양한 후, 원심분리(1,000 rpm, 5분)한 다음 배양상층액 50 µl를 새로운 96-well microplate로 옮겼다. 각 well에 Promega 사의 substrate mix(Cytotox 96 Non-radioactive Cytotoxic Kit) 50 µl를 넣고 상온에서 30분간 발색 반응시킨 후, 490 nm에서의 흡광도를 측정하고 아래와 같은 방식으로 세포독성 T 임파구의 활성을 계산하였다.

$$\frac{\text{CTL cytolytic activity} = \frac{(\text{Experimental-Effector spontaneous}) - \text{Target spontaneous}}{\text{Target maximum-Target spontaneous}} \times 100$$

결과 및 고찰

홍삼의 물추출물, 70% ethanol 추출물과 saponin

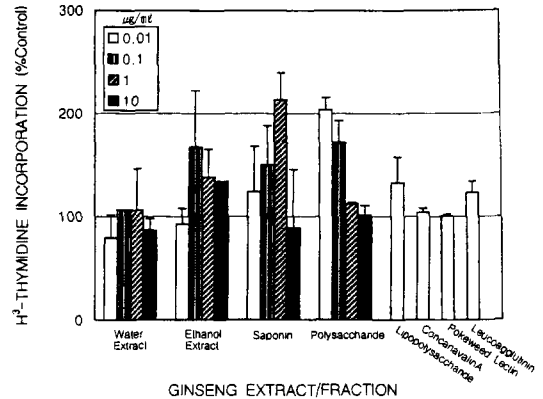


Fig. 1. Effect of ginseng extract/fractions on the cell proliferation of mouse B lymphocytes. Five-days cultured mouse splenic B lymphocytes were seeded at 1~2×10⁵ in 96-well plates with serum-free RPMI medium, and the next day ginseng extract/fractions were added at 0.01~100 µg/ml. After 24 hours of treatment, the incorporation of [³H]-thymidine was determined. The data are the mean of three cultures from two separate experiments.

분획, polysaccharide 분획 등이 생쥐의 B, T 임파구의 세포증식에 어떠한 영향을 미치는 지를 조사하였다. 그 결과, 홍삼의 물추출물에 의해서는 B 임파구의 세포증식이 별 영향을 받지 않았으나, ethanol 추출물은 B 임파구의 세포증식률을 1.5배 정도 증가시켰다(Fig. 1). Saponin 분획, polysaccharide 분획 등은 B 임파구의 세포 증식을 더욱 현저히 촉진하였으며, 특히 polysaccharide 분획은 0.01 µg/ml의 낮은 농도에서도 B 임파구의 증식률을 2배 정도 증가시켰다(Fig. 1). 한편, T 임파구에 대해서는 홍삼의 물추출물, ethanol 추출물 모두 세포 증식을 촉진하였는데, 특히 ethanol 추출물은 T 임파구의 세포증식률을 거의 3배 정도 까지 증가시켰다(Fig. 2). T 임파구의 경우 홍삼의 saponin 분획에 의한 세포증식 촉진효과가 가장 현저하게 나타났는데, 0.01 µg/ml 농도의 saponin 성분들에 의해 T 임파구의 세포증식률은 2.5배 이상 증가되었다(Fig. 2). 한편, 기존에 면역활성제로 알려진 *E. coli*의 lipopolysaccharides, jack bean의 concanavalin A, pokeweed의 lectin, red kidney bean의 leucoagglutinin 등을 0.01 µg/ml의 저농도로 임파구 배양액에 첨가하였을 때는 세포증식 촉진효

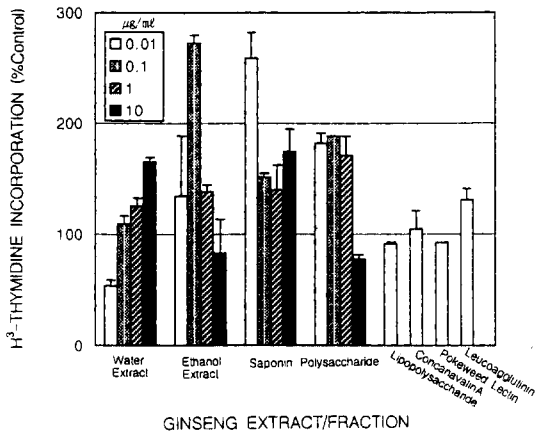


Fig. 2. Effect of ginseng extract/fractions on the cell proliferation of mouse T lymphocytes. The cell proliferation of mouse splenic T lymphocytes was determined as described in Fig. 1. The data are the mean of three cultures from two separate experiments.

과가 뚜렷하게 나타나지 않았다(Fig. 1 & 2). 따라서 홍삼의 추출물, 특히 saponin, polysaccharide 분획물 중에는 B, T 임파구의 세포증식을 촉진하는 물질들이 포함되어 있으며, 본 실험에 사용한 saponin, polysaccharide 분획들이 홍삼 추출물의 초기분획인 점을 감안할 때 이들 물질은 매우 강력한 임파구 세포 증식제(mitogen)일 것으로 추정된다.

위와 같은 정상적인 B, T 임파구 세포들 외에 변환된(transformed) 임파구 세포 line에 대해서도 홍삼의 추출물, 분획 등이 세포증식에 어떠한 영향을 미치는지를 조사하기 위해, B lymphoma cell line인 Daudi(human burkitt lymphoma)와 T lymphoma cell line인 Jurkat(monkey lymphoblastic leukemia)의 배양액에 홍삼의 추출물, 분획 등을 첨가하였다. 이 경우에도 홍삼의 추출물, 분획 등은 B 세포 line인 Daudi나 T 세포 line인 Jurkat의 세포증식률을 1.5~2.5배 정도의 높은 수준으로 증가시켰다(Fig. 3). 한편, 임파구 세포 line이 아닌 세포 line들에 대해서 조사하였는데, 이 경우 홍삼의 saponin, polysaccharide 분획 등이 mouse fibroblast cell line인 NIH3T3 세포들에 대해 약간의 성장촉진 효과를 발휘하였으나 Daudi, Jurkat 등과 같은 면역세포 line들에 비해 미미한 수준이며, 홍삼의 추출물에 의해서는 NIH3T3의 세포증식이 거의 영향을 받지 않았다(Fig. 3). 또한, 사람의 상피암 세포 line인 A431에 대

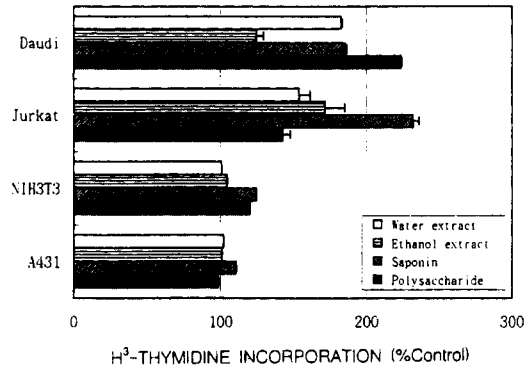


Fig. 3. Effect of ginseng extract/fractions on the cell proliferation of various transformed cell lines. Log phase cells were seeded at $1\sim2 \times 10^5$ in 96-well plates with serum-free RPMI medium, and the next day ginseng extract/fractions were added at 0.01~100 µg/ml. After 24 hours of treatment, the incorporation of [³H]-thymidine was determined. The data are the mean of three cultures from two separate experiments.

해서도 홍삼의 추출물, 분획 등은 세포증식 촉진효과를 거의 발휘하지 못하였다. 이상의 결과들을 종합해 볼 때, 인삼에는 비면역계 세포들보다도 면역세포들-특히 B, T 림파구에 특이적으로 작용하는 세포증식 촉진제가 함유되어 있을 가능성이 매우 높은 것으로 판단된다.

홍삼의 추출물, 분획 등이 B 임파구의 세포활성을 촉진하는지의 여부를 조사하기 위해 B 임파구 배양액에 홍삼의 물 추출물, ethanol 추출물, 그리고 saponin 분획, polysaccharide 분획 등을 첨가하고 B 임파구의 면역글로불린(immunoglobulin) 생성·분비 수준을 측정하였다. 그 결과, B 임파구 세포들의 면역글로불린 생성수준은 홍삼의 추출물, 분획 등에 의해 거의 영향을 받지 않는 것으로 나타났다(data not shown). 생체내 주요 면역글로불린 type인 IgG의 생성·분비 수준에 홍삼의 추출물, 분획 등이 미치는 영향을 조사하였을 때에도 인삼의 ethanol 추출물에 의해서는 IgG의 생성 수준이 약간 증가하였지만 그 수준은 앞서의 ethanol 추출물이 B 임파구의 세포증식을 촉진하는 정도를 감안할 때 미미한 수준이며, 홍삼의 물 추출물과 분획들에 의해서는 B 임파구의 IgG 생성·분비량이 대조군에 비해 별 차이가 없거나 오히려 약간 감소하는 경향을 보였다(Fig. 4). 일

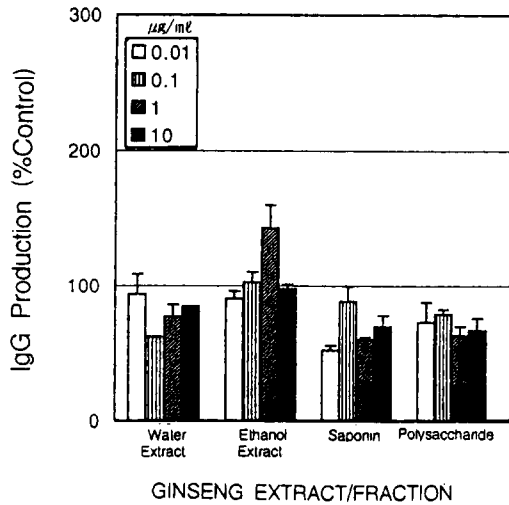


Fig. 4. Effect of ginseng extract/fractions on IgG secretion by cultured mouse B lymphocytes. Mouse B lymphocytes ($1\sim 2 \times 10^5$ cells) were stimulated with ginseng extract/fractions for 6 days. After supernatant was collected from the culture, IgG was assayed by ELISA. The data are the mean of three cultures from two separate experiments.

반적으로 B 임파구가 항원, lymphokine 등과 같은 자극을 받을 때 일어나는 세포증식과 항체생성은 동시에 진행되기 보다는 순차적으로 이행되기 때문에, 앞서와 같이 홍삼의 추출물, 분획 등이 B 임파구의 세포증식을 촉진시킨 점과 B 임파구의 항체 생성력이 홍삼 추출물, 분획 등에 의해 별 영향을 받지 않는다는 결과는 서로 모순된 것은 아니다. 그러나, 본 연구에서는 특정 항원에 의해 이미 자극을 받은 생쥐로부터 분리한 B 임파구를 대상으로 면역글로불린 생성에 홍삼 추출물, 분획 등이 미치는 영향을 조사한 것이 아니므로, 실제로 B 임파구의 항체 생성이 인삼 성분에 의해 어떠한 영향을 받는지를 세포수준에서 명확히 파악하기 위해서는 생체에 여러 항원을 주입한 후에 얻은 B 임파구(primed B lymphocyte)를 대상으로 연구를 진행할 필요가 있다.

한편, 홍삼 추출물, 분획 등이 T 임파구 중 세포독성 T 임파구(CTL)의 세포활성에 어떠한 영향을 미치는지를 조사하기 위해 T 임파구 세포분획에서 CTL의 세포독성력(cytotoxic potential)을 유도한 후 암세포인 YAC-1(mouse lymphoma cell line)에 대한 세포파괴 활성(cytolytic activity)을 측정하였

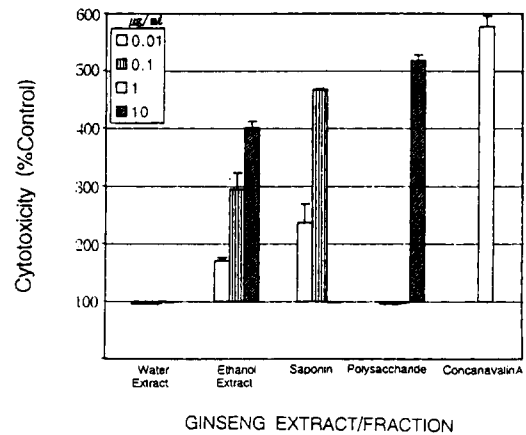


Fig. 5. Effect of ginseng extract/fractions on the cytolytic activity of mouse cytotoxic T lymphocytes. Mouse splenic T lymphocytes ($1\sim 2 \times 10^5$ cells) were cultivated in a sensitized medium to induce cytolytic activity of cytotoxic T lymphocyte precursors. Ginseng extract/fractions and concanavalin A were added to culture on day 0. Target cells (YAC-1) were added on day 5 of culture and supernatant was collected 4 hours later. Cytotoxicity was determined by lactate dehydrogenase assay. The data are the mean of three cultures from two separate experiments.

다. 그 결과, 홍삼의 물 추출물은 별 영향을 미치지 않은 반면, ethanol 추출물과 saponin, polysaccharide 분획 등은 CTL의 암세포 파괴활성을 최고 4~5배 수준까지 상승시켰다(Fig. 5). 특히, saponin 분획은 0.01 μg/ml의 낮은 농도에서도 CTL의 암세포 파괴활성을 2.5배 정도 증가시켰다. 홍삼의 추출물, 분획 등에 의한 이러한 CTL활성 촉진효과는 CTL의 임파구의 강력한 활성물질인 concanavalin A보다는 낮은 수준이지만 본 실험에 사용된 saponin 분획이 여러 ginsenoside들의 혼합물임을 감안할 때 상당히 주목할 만한 것이다. 따라서 인삼에는 T 임파구 중 적어도 세포독성 T 임파구의 세포활성을 촉진하는 물질이 함유되어 있을 가능성이 매우 높다고 판단된다.

이상의 실험결과들은 인삼의 면역기능 강화 효능을 면역체계에서 중추적인 역할을 하는 B, T 임파구에 대해 세포수준에서 일차적으로 검증한 것으로서, 후속연구를 통해 홍삼의 추출물, 특히 saponin, polysaccharide 분획으로부터 분리정제된 특정 물질에 대해 B, T 임파구의 세포증식과 세포활성 촉진효과

를 확인하게 되면 이는 인체 면역기능 강화 물질의 개발이라는 점에서 큰 의의가 있을 것이다.

요 약

본 연구에서는 생쥐로부터 분리된 B 및 T 임파구들에 대해 홍삼의 물추출물, 70% ethanol 추출물, saponin, polysaccharide 분획 등이 B, T 임파구의 세포증식과 세포활성에 어떠한 영향을 미치는지를 조사함으로써 인삼의 면역활성 효능을 세포단계에서 검증하고자 하였다. 그 결과, 홍삼 추출물 및 saponin, polysaccharide 성분 등은 B, T 임파구들의 증식을 1.5~2.5배 정도 촉진하였다. 이러한 홍삼 추출물, 분획 등에 의한 세포증식 촉진효과는 비면역계 세포들에 대해서는 거의 나타나지 않았다. B 임파구들의 면역글로불린 생성·분비량은 홍삼 추출물, 분획 등에 의해 거의 영향을 받지 않은 반면, 홍삼의 ethanol 추출물, saponin, polysaccharide 분획 등은 세포독성 T 임파구의 암세포 파괴력을 4~5배 정도 증가시켰다. 이러한 결과는 B, T 임파구들의 세포증식과 세포독성 T 임파구들의 암세포 파괴활성을 촉진시키는 면역활성물질이 인삼에 함유되어 있을 가능성을 강하게 시사하는 것이다.

감사의 말씀

이 연구는 한국담배인삼공사 공익사업단의 1995년 연구비 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사를 드립니다. 아울러 홍삼의 추출물 및 saponin, polysaccharide 분획 등을 제공해 주신 한국인삼연초연구원의 김 신일, 이 유희 박사님께도 깊은 감사를 포함합니다.

인 용 문 헌

- Ullman, K. S., Northrop, J. P., Verweij, C. L. and Crabtree, G. R. : *Annu. Rev. Immunol.*, **8**, 421 (1989).
- Georgiev, V. S. : *Trend Pharmacol. Sci.*, **11**, 373 (1990).
- Bessler, W. G., Cox, M., Lex, A., Suhr, B., Wiesmuller, K. H. and Jung, G. : *J. Immunol.*, **135**, 1900 (1985).
- Umezawa, H. : *Biotechnol. Bioeng.*, **22**, 99 (1980).
- Lex, A., Jung, G. and Bessler, W. G. : *J. Immunol.*, **137**, 2676 (1986).
- Werner, G. H. : *Immunol. Lett.*, **16**, 363 (1987).
- Denes, L. : *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, **9**, 1 (1987).
- Henderson, R. A., Cox, A. L., Sakaguchi, K., Apella, F., Shabanowitz, I., Hunt, D. F. and Engelhard, V. H. : *proc. Natl. Acad. Sci., USA* **90** (1993).
- Burton, P. M., Horner, B. L., Jones, G. H., Lin, T., Nestor, I. J. Jr., Newman, S. R., Parks, T. L., Smith, A. J. and White, A. : *Int. J. Immunopharmacol.*, **9**, 297 (1987).
- Plow, E. F. and Edginton, T. S. : *J. Immunol.*, **137**, 1910 (1986).
- Parker, F., Miglior-Sarnour, D., Floc'h, F., Zerital, A., Werner, G. H., Jolles, I., Casaretto, M., Zahn, H. and Jolles, P. : *Eur. J. Biochem.*, **145**, 677 (1984).
- Berthou, J. L., Migliore-Samour, D., Lifchitz, A., Delettre, J., Floc'h F. and Jolles, P. : *FEBS Lett.*, **218**, 55 (1987).
- Litwin, A., Pesce, A. I. and Michael, J. G. : *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, **87**, 361 (1988).
- Klausner, R. D., Lippincott-Schwartz, I. and Bonifacio, J. S. : *Ann. Rev. Cell. Biol.*, **2**, 149 (1990).
- 김미나, 정노팔 : *고려인삼학회지* **13**, 223 (1989).
- 김웅, 정노팔 : *고려인삼학회지* **13**, 24 (1990).
- 최상운, 정노팔, 김세창 : *고려인삼학회지* **14**, 364 (1990).
- 전혜경, 김세창, 정노팔 : *고려인삼학회지* **15**, 99 (1991).
- Oura, H. S., Odaka, H. Y. and Yokozawa, T. : *J. Biochem.*, **77**, 1057 (1975).
- 소진탁, 이건수, 김상준 : *연대의대 논문집* **9**, 119 (1976).
- Singh, V. K., Agurwal, S. S. and Gupta, B. M. : *Proc. 4th Intl. Ginseng Symp* (1984).
- 김미정, 정노팔 : *고려인삼학회지* **11**, 130 (1987).
- 최선경, 정노팔 : *고려인삼학회지* **10**, 133 (1986).
- Coligan, J. E., Kruisbeek, A. M., Margulies, D. H., Shevach, E. M. and Strober, W. : *Current Protocols in Immunology* Vol. 1., 3.1-3.12, Wiley Interscience Press, NY, U.S.A. P3.1-3.12 (1991).
- Makinen, K. K. and Tenovu, J. : *Anal. Biochem.*, **126**, 100 (1982).