

## 동충하초 (*Cordyceps sinensis*)추출물을 첨가한 발효김치의 급여가 생쥐의 면역작용에 미치는 영향

안택원, 임석인, 왕수경\*  
대전대학교 한의과대학, \*대전대학교 식품영양학과

## Effect of Kimchi containing *Cordyceps sinensis* extract on the Immune Function of Balb/c mice

Tack-Won Ahn, Seok-Rhin Lim, Soo-Kyoung Wang\*

College of Oriental Medicine, \*Dept. of food & Nutrition, College of Natural Science, Daejeon University, Daejeon  
300-716, Korea

This experimental study was carried out to evaluate the effects of Kimchi intake of *Cordyceps sinensis* extract (CDSE) supplementation on cytokine-induction and immune response in mice. To study in experiments using male Balb/c mice fed Kimchi and Kimchi of CDSE supplementation (addition of 2% of total Kimchi weight) containing fed experimental diet during 2 weeks. Experimental mice were fed control diet or diet containing freeze-dried Kimchi at the level of 5%(w/w) or 5% freeze-dried Kimchi with 2% CDSE supplementation. The main ingredient of Kimchi was Korean cabbage and fermentation was carried out at 4°C for three weeks. Freeze-dried 2% CDSE supplementation was added to Kimchi at the beginning of fermentation. In order to investigate the effect of Kimchi intake of CDSE supplementation (5%Kimchi-2%CDSE), the following was performed; body weight, food intake, hematological parameter, serum level of mouse interleukin-4 (mIL-4) and mouse interferon- $\gamma$  (mIFN- $\gamma$ ), and , the percentage of CD3+/CD4+, CD3+/CD8+, B220+ in splenic cells. The results of final body weight, and food diet intake of two Kimchi groups were lower than those of the control group (not supplemented experimental diet). The hematology change obtained from the level of WBC (white blood cell) and platelet were not affected by feeding different dietary regimens, but the level of RBC (red blood cells) HB (hemoglobin), and spleen weight of two Kimchi groups were increased significantly than those of the control group. The serum level of IL-4 and IFN- $\gamma$  of two Kimchi groups were increased significantly than those of the control group, also enhanced the percentages of the CD3+/CD4+ and CD3+/CD8+ by 5% freeze-dried Kimchi, and 5%Kimchi-2%CDSE group were 43.9 and 60.1%, and 96.0 and 174% than those of the control group, respectively. From these results, it can be concluded that Kimchi itself has an immuno-stimulatory effect and Kimchi containing 2% CDSE supplementation has the more pronounced effect in vivo system.

Key word:

---

**Key words:** Kimchi, *Cordyceps sinensis*, cytokine, hematology, immune

---

안택원 외 2인 : 동충하초 추출물을 첨가한 발효김치의 급여가 생쥐의 면역작용에 미치는 영향

## 서 론

김치는 한국 특유의 채소 가공 식품. 배추, 무 및 오이 등을 소금에 절여서 고추, 마늘, 파, 생강, 젓갈 등의 양념을 버무려 담가 놓고 먹는다. 한국인의 식탁에서 빼놓을 수 없는 반찬이다. 배추는 여러 가지 양념과 더불어 김치로 가공되어 우리에게 각종 비타민과 무기질을 공급하며, 짠 육식으로 인하여 현대인에게 부족한 식이 섬유와 공급원이 된다. 김치 부재료 중 맛과 색에 크게 영향을 끼치는 고추에 있어서 매운 맛의 원인이라 알려진 capsaicin은 위액분비 촉진기능, 살균작용과 적절히 사용 시 면역세포 활성이 증진되고, 또한 capsaicin이 체액성 면역증강작용, 암유전자 발현 조절작용, 생체 내 영양소 대사 조정 작용 등 만성질환 예방효과가 보고되고 있다1). 최근 기능성 식품의 개발에 따라 김치에 여러 가지 한약추출물을 첨가하여 김치가 가지고 있는 비만, 고혈압, 당뇨병, 소화기계통의 암 예방 등의 효과를 극대화하는 연구가 활성화되고 있다2). 이러한 효과는 김치가 지방함량과 열량이 매우 낮고, 비타민과 무기질의 함량이 높으며, 식이 섬유소와 발효과정에서 생성된 젖산균 및 유기산에 의한 변비예방 및 정장작용이 있어 장내 면역 기능의 활성화를 동물실험 등으로 입증되고 있다3). Kato 등은 김치 유산균인 *L. casei*의 투여로 복강내의 대식세포와 혈액내의 T 임파구의 활성화로 항암작용이 있음을 보고하였고4), 그리고 Popova와 Guencheva는 *L. bulgaricus* 유산균을 흰쥐에 경구 투여하여 분리된 복강 대식세포에서 IL-1과 TNF- $\alpha$ 의 생산량이 증가되었다고 보고하였다5). Matsuzaki 등은 유산균을 투여한 Balb/c 생쥐의 혈액에서 IL-6, 와 IFN- $\gamma$ 의 생산량이 증가하였고, CD8+ T 임파구의 활성화를 관찰할 수 있었다6). 지금까지 알려진 영양생리효과로 생마늘 섭취에 의한 혈중 콜레스테롤, 중성지방 저하 효과와 혈전용해능,

Natural killer 세포 활성능 증가효과7,8), 고춧가루의 혈전용해능 증가9)와 면역능력 증강효과10), 유산균의 혈중 콜레스테롤 저하효과11), 김치의 발효에 관여하는 생유산균의 면역증강작용등을 보고하고 있다12).

본 연구에서는 중국 고대인들이不老草라고 불리었고, 질병치료와 면역증진에 탁월한 효과13,14,15,16,17,18)가 있는 것으로 알려져 있는 동충하초 (冬蟲夏草, *Cordyceps sinensis*)를 김치에 첨가하여 동시 발효시킨 후 동결 건조한 동충하초 첨가 김치식이 (5%Kimchi-2%CDSE)를 생쥐에 투여 후 생쥐의 식이 섭취량, 체중변화, 비장무게, CD3e+ /CD4+ 세포수, CD3e+ /CD8+ 세포수, B220+ 세포수, 그리고 혈청중 IL-4와 IFN- $\gamma$ 의 함량을 측정하여 면역작용에 대한 영향을 관찰하고자 하였다.

## 연구내용 및 방법

### 1. 재 료

#### 1) 시약

적혈구용혈액 (RBC lysis solution), Dulbecco's phosphate buffered saline (D-PBS)은 Sigma 사 (USA)제품을 사용하였으며, IL-4와 IFN- $\gamma$  enzyme-linked immuno-sorbent assay ELISA kit (USA)은 Endogen사 제품을 사용하였고, 유세포 형광분석에 사용된 PE-anti-CD3e, FITC-anti-CD4, FITC-anti-CD8, 그리고 PE-anti-B220은 Pharmingen 사 (Torreyana, USA)의 제품을 구입하였으며, 기타 일반 시약은 특급 시약을 사용하였다.

#### 2) 동물 및 사육 조건

본 실험을 위하여 사용된 Balb/c 생쥐는 한국 화학연구소에서 분양 받아 1주 이상 적응시킨 후 실험에 사용하였으며, 실험당일까지 고휘사

료 (조단백질 22.1%이상, 조지방 8.0%이하, 조섬유 5.0%이하, 조회분 8.0%이하, 칼슘 0.6%이상, 인 0.4%이상, 삼양사)와 물을 충분히 공급하고 실온 22±2℃를 계속 유지하고 2주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 대조군, 5%Kimchi군, 5%Kimchi-2%CDSE 군으로 나누어 실험에 사용하였다.

3) 약 재

본 실험에 사용된 동충하초 (Cordyceps sinensis)는 대전대학교 부속 한방병원에서 구입한 것을 정선하여 사용하였다.

4) 동충하초 추출물 분리

동충하초 (100g)을 증류수 1300 ml을 가하여 열탕 추출기에서 3시간 추출하여 얻은 액을 흡입 여과하여 이를 감압증류장치 (Rotary evaporator, BUCHI B-480, Switzerland)로 농축하여, 이를 다시 동결 건조기 (Freeze dryer, EYELA FDU-540, Japen)를 이용하여 완전 건조하여 사용하였다.

5) 동충하초 첨가 김치의 제조

김치제조는 배추의 겉잎을 떼어내고 4등분하

여 5x5 cm 크기로 썰어서 배추무게 1.5배 양의 10% 소금용액에 3 hr동안 절인 후 3회 수세한 후 4℃에서 2 hr 물빼기를 하였다. 김치를 제조하기 위하여 절임배추 100에 대하여 고춧가루 5.84, 멸치액젓 5.84, 마늘 2.40, 생강 0.52의 비율로 부재료를 첨가하여 제조한 김치와 절인 배추의 무게에 대하여 2% 동충하초추출물을 양념에 혼합하여 제조한 김치를 밀폐용기에 넣은 다음 4℃에서 3주간 숙성시킨 후 동결 건조기 (Freeze dryer, EYELA FDU-540, Japen)를 이용하여 완전 건조하여 사용하였다.

6)식이사료 제조

동물식은 American Institute of Nutrition(AIN-76)의 식이조성을 참고하였으며 본 실험에 사용한 식이조성은 Table 1와 같고, 모든군은 AIN-7619) 조제식이와 물을 ad libitum으로 섭취시켰고, 5%Kimchi군은 AIN-76 조제식이에 김치분말 5.0 g (5%)를 첨가하였다. 그리고 5%Kimchi-2%CDSE군은 AIN-76 조제식이에 김치분말 5.0 g (5%)과 2g (2%) 동충하초 추출물을 첨가하여 식이를 제조하여 실험에 사용하였다.

Table 1. Experimental diet composition ( % diet )

Ingredients	Control	5% Kimchi	5% Kimchi-2% CDSE
Casein	20	19.9	19.84
D,L-methionine	0.3	0.3	0.3
Corn starch	45	36.36	31.32
Sucrose	20	20	20
Corn oil	9.5	9.23	9.06
Mineral mixture <sup>1)</sup>	4	4	4
Vitamin mixture <sup>2)</sup>	1.0	1	1
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2
Kimchi	0	5	5
CDSE	0	0	2

1) Mineral mixture ingredients (mg/kg Mixture):Calcium phosphate (CaHPO4) 500, sodium chloride 74, potassium citrate, monohydrate 220, potassium sulfate 52, magnesium oxide 24, manganous carbonate 3.5, ferric citrate 6, zine carbonate 1.6, cupric carbonate 0.3,

안택원 외 2인 : 동충하초 추출물을 첨가한 발효김치의 급여가 생쥐의 면역작용에 미치는 영향

potassium iodate 0.01, sodium selenite 0.01, chromium potassium sulfate 0.55, sucrose finely powdered to make 1,000

2) American Institute of Nutrition vitamin mixture ingredients(per kg mixture) : thiamin HCl 600mg, riboflavin 600mg, pyridoxine HCl 700mg, nicotine acid (nicotinamide is equivalent) 3g, D-calcium pantotheante 1.6g, Folic acid 200mg, D-biotin 20mg, cyanocobalamine (Vitamin B12) 1mg, retinyl palmitate or acetate (Vitamin A)-as stabilized powder to provide 400,000IU vitamin activity or 120,000 retinol equivalents, DL- $\alpha$ -tocopheryllacetate (Vitamin E)-as stabilized powder to provide 5,000IU vitamin E activity, cholecaliferol 2.5mg(100,000 IU. May be in power form), menaquinone (Vitamine K) 5.0mg, sucrose, finely powdered to make 1,000g.

## 2. 연구 방법

### 1) 식이사료 투여에 대한 섭취량 및 체중 변화

Balb/c 생쥐에 정상사료 투여군 (C군), 정상 김치식이 투여군 (5%Kimchi군)과 동충하초 첨가 김치식이 투여군 (5%Kimchi-2%CDSE군)으로 나누어 자유식한 후 섭취한 식이량과 체중 (body weight)을 14일간 2일 간격으로 측정하였다.

### 2) 혈구세포 측정 및 혈청분리

식이사료를 14일간 투여 후 24시간 동안 절식 (starvation)시킨 후 생쥐를 ethyl ether로 마취시킨 다음 심장천자 (cardiac puncture)로 혈액을 채혈하여 일부는 자동혈구측정기 (MINOS-Roche, France)로 백혈구 (white blood cell; WBC), 적혈구 수 및 헤모글로빈 양 (red blood cell; RBC, hemoglobin), 그리고 혈소판 수 (platelet)를 Minos-ST로 측정하였다. 다른 혈액의 일부는 상온에서 2시간 방치 후 3500 rpm에서 20분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 그리고 복부를 개방하고 비장을 적출한 후 전자저울 (chemical balance, germany)로 무게를 측정하였다.

### 3) 혈청중 IL-4와 IFN- $\gamma$ 농도 측정

생쥐의 혈청중 IL-4와 IFN- $\gamma$ (ELISA, Endogen, USA)의 농도는 ELISA로 측정하였다. 각각에 monoclonal anti-mIL-4와 anti-mIFN- $\gamma$ 가 미리 coating되어 있는

96-well microtiter plate에 혈청을 50  $\mu$ l씩 분주하였다. 1 시간 동안 실온에서 방치한 후 2회 washing 완충용액으로 세척한 다음 antibody conjugate(Avidin-HRP conjugated) 100  $\mu$ l를 처리하였고, 1 시간 실온에서 방치한 후 다시 세척하였다. TMB 기질을 100 $\mu$ l씩 분주하고 암소에서 30 분간 방치한 후 50  $\mu$ l의 stop 용액을 처리한 후 ELISA reader (Molecular device, USA) 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 4) 유세포 형광분석기를 이용한 면역활성세포 측정

분리한 비장에서 비장세포 (spleen cell)를 채취하여 2000 rpm에서 5분간 원심분리하고, 적혈구용혈액 (Sigma) 2 ml을 넣고 37 $^{\circ}$ C 항온 수조에 5 분간 방치하였다. 그리고 나서 즉시 10 ml의 D-PBS를 첨가하여 2000 rpm에서 5 분간 원심분리하여 사용하였다. 분리된 비장세포들을 인산완충생리식염수 (3% 우태아혈청, 0.1% NaN<sub>3</sub>)로 2회 수세한 후 4 $^{\circ}$ C에서 면역형광염색 (immunofluorescence staining)을 실시하였고, 각각에 PE-anti-CD3e, FITC-anti-CD4, FITC-anti-CD8, 그리고 PE-anti-B220 (CD45R)을 넣고 30분간 얼음에서 반응시켰다. 반응 후 3회 이상 인산완충생리식염수로 수세한 후 유세포 형광분석기 (flow cytometer, Becton dickinson, USA)로 면역활성세포를 분석하였다. 면역세포 분석은 CellQuest 프로그램을 이용하여

CD3e+/CD4+, CD3e+/CD4+, 그리고 B220+ (positive cell)의 비율 (gated, %)을 산출한다.

5) 통계처리

본 연구로부터 얻은 결과는 mean±standard error로 기록하였다. 유의성 검증은 Student's t-test 분석 방법을 이용하여 결정하였다.

**연구결과**

1. 생쥐의 식이사료의 섭취량 및 체중 변화

생쥐 10마리를 한 군으로하여 무첨가 정상사료는 C군으로 하였고, 5% 김치첨가 사료는 5%Kimchi군, 그리고 2% 동충하초 추출물을 첨가한 김치첨가 사료는 5%Kimchi-2%CDSE군으로 구분하여 14일간 사료와 물을 자유식한 후 최종체중과 식이섭취량을 측정하였다. Fig.1에서 보는바 같이 김치첨가 사료를 급여한 생쥐가 무첨가 사료를 급여한 C군에 비하여 식이섭취량이 급여 날짜에 따라 75%에서 50%의 감소를 나타내었다. 식이섭취량은 모든 군에서 날짜가 지남에 따라 약간의 증가를 보였지만 유의성은 없었다. 또한 5%Kimchi군과 5%Kimchi-2%CDSE군의 식이섭취량은 차이가 없었다. 최종 체중의 변화는 Fig.2에서 같이 C군에 비하여 김치첨가 사료군이 현저한 체중감소효과를 보였으며 식이섭취량의 차이 때문에 체중의 감소는 예견되었지만, 5%Kimchi-2% CDSE군과 5%Kimchi군에서 두 군간에 식이섭취량이 차이가 없었지만 체중의 차이가 나타난 것을 관찰하였다. 처음 실험 시작시에 Balb/c 생쥐의 평균체중은 약 18g이었고, 2주 후 C군에서 34.4%, 5%Kimchi군이 25.6%, 그리고 5%Kimchi-2%CDSE군이 15.6%로 체중증가가 관찰되었다.

2. 혈구세포 분석 및 비장무게 측정

생쥐에 C군, 5%Kimchi군, 그리고 5%Kimchi-2%CDSE군으로 구분하여 14일간 사료를 급여한 후 ethyl ether로 마취한 후 심장천자법으로 채혈하여 CBC (complete blood cells)를 수행하여, Table 2.에서와 같이 백혈구수, 적혈구수, 혈소판수, 그리고 헤모글로빈수를 관찰하였다. 백혈구수와 혈소판수는 모든 군에서 차이가 없었다. 그리고 적혈구수와 헤모글로빈수는 C군에 비하여 5%Kimchi군과 5%Kimchi-2%CDSE군이 증가하였고, 5%Kimchi-2%CDSE군이 유의성 있게 현저한 증가를 나타냈다 (p<0.05, p<0.001). 실험 종료 후 생쥐의 비장을 적출하여 비장무게를 측정한 결과는 C군에 비하여 5%Kimchi군과 5%Kimchi-2%CDSE군이 32.3%가 증가하였다. 그러나 5%Kimchi군과 5%Kimchi-2%CDSE군은 차이가 나타나지 않았다.

3. 혈청중 mIL-4와 mIFN-γ농도 측정

생쥐의 혈청을 분리하여 혈청중 mIL-4와 mIFN-γ의 분비량을 ELISA로 측정하여 5%Kimchi군과 5%Kimchi-2%CDSE군에 대한 영향을 관찰하고자 하였다. 본 연구 결과는 Fig.3에서 같이 C군의 mIL-4 생산량은 33.2±2.04 (pg/ml)이었고, 5%Kimchi군은 48.2±2.15 (pg/ml)이고, 5%Kimchi-2%CDSE군은 55.1±2.41 (pg/ml)으로 C군에 비하여 증가를 관찰할 수 있었다. 또한 5%Kimchi-2%CDSE군이 5%Kimchi군에 비하여 14.3%의 유의한 증가를 관찰할 수 있었다 (p<0.01). mIFN-γ의 생산량은 C군 (18.4±0.71 pg/ml)에 비하여 5%Kimchi군 (26.8±0.81 pg/ml), 그리고 5%Kimchi-2%CDSE군 (30.6±1.10 pg/ml)에서 각각 50%이상 생산량을 관찰하였고, 5%Kimchi-2%CDSE군이 5%Kimchi군에 비하여 14.2%의 유의한 증가를 관찰할 수 있었다 (p<0.01).

안택원 외 2인 : 동충하초 추출물을 첨가한 발효김치의 급여가 생쥐의 면역작용에 미치는 영향

**Table 2. The effects of Kimchi and Kimchi of CDSE supplementation intake on the hematological parameter in Balb/c mice.**

Group	Hematology change				Spleen weight (g/mouse)
	WBC (x10 <sup>3</sup> )	RBC (x10 <sup>6</sup> )	Platelet (x10 <sup>3</sup> )	HB (g/dL)	
Control	6.3 ± 0.4	4.94 ± 0.2	895 ± 28.4	10.7 ± 0.23	0.127 ± 0.002
5% Kimchi	6.8 ± 0.3	5.03 ± 0.1	843 ± 39.1	13.6 ± 0.14	0.168 ± 0.001
5% Kimchi-2% CDSE	6.4 ± 0.5	5.31 ± 0.1*	845 ± 30.5	15.0 ± 0.21***	0.167 ± 0.003

The experiments using male Balb/c mice fed Kimchi, Kimchi of CDSE supplementation, and control group (not supplemented diet) containing fed experimental diet during 2 weeks. Two kinds of freeze dried Kimchi in fermentation (3 weeks fermented Kimchi at 4 °C) were added at 5% of the diet containing fed experimental diet. hematological parameter were analyzed to automatic hematology (Minos, France), and Spleen weight (g) was measured using a digital electronic balance as described in *Material and Methods*. Each point represents the mean ± S.E of 10 mice. Statistically significant value compared with control group by T test (\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001).

#### 4. 유세포 형광분석기를 이용한 면역활성세포 분석

생쥐의 비장(spleen)은 면역세포인 T 림프구와 B 림프구가 대부분을 차지하고, 그 외에 다수의 대식세포, 수지상세포 및 형질세포들로 구성되어 있다. CD3e 표면항원을 갖는 T 림프구는 CD4+ 부속세포와 CD8+ 세포인 T 림프구가 주로 존재하여 외부 항원에 대한 면역반응을 수행한다. 그리고 항체생성 기능을 갖는 B 림프구는 B220 (CD45R) 표면항원을 갖고 체액성 면역을 수행한다. 본 연구는 생쥐에 5%Kimchi군과 5%Kimchi-2%CDSE군에서 비장을 적출하여 면역형광염색을 실시하여 CD3e+/CD4+, CD3e+/CD8+, 그리고 B220+의 수를 측정하여 활성면역세포의 비율 (%)을 산출하였다. 그 결과 Fig.4에서 보듯이 CD3e+/CD4+ 와 CD3e+/CD8+ 의 비율 (%)이 5%Kimchi군과 5%Kimchi-2%CDSE군이 C군에 비하여 현저한 증가를 관찰할 수 있었다. 그리고 5%Kimchi-2%CDSE군이 5%Kimchi군에 비하여 CD3e+/CD4+ 이 약 11.3%의 유의한

증가를 보였고 (p<0.01), CD3e+/CD8+ 은 40%의 유의한 증가를 관찰할 수 있었다 (p<0.05).

## 고 찰

김치첨가와 동충하초 첨가김치를 발효한 후 동결건조하여 분말사료에 5%로 혼합하여 생쥐에 자유식으로 14일간 급여하였다. 실험식이의 급여에 따른 체중의 변화와 식이 섭취량등을 측정 한 결과, 김치첨가 사료를 급여한 생쥐가 무첨가 사료를 급여한 C군에 비하여 식이 섭취량이 급여 날짜에 따라 75%에서 50%의 감소를 나타내었으며, 또한 5%Kimchi군과 5%Kimchi-2%CDSE군의 식이 섭취량은 차이가 없었다. 최종 체중의 변화는 Fig.2에서 같이 C군에 비하여 김치첨가 사료군이 현저한 체중 감소효과를 보였다. 그러나 식이섭취량의 차이를 체중의 변화에 연관지을 때 체중의 감소는 예견되었지만, 5%Kimchi-2%CDSE군과 5%Kimchi군에서 식이섭취량이 차이가 없는 결

과에서 체중의 차이가 나타난 것은 동충하초의 첨가 효과라고 사료된다. 평균체중의 변화는 2주 후 C군에서 34.4%, 5%Kimchi군이 25.6%, 그리고 5%Kimchi-2%CDSE군이 15.6%로 체중증가가 관찰되었다. 이러한 결과는 Kim과 Lee의 연구결과인 “김치의 급여가 흰쥐의 체내 지방함량을 감소시킨다”는 결과와 일치하였다(20). 그리고 두 김치 첨가군에서 동충하초 추출물의 첨가로 약 10%의 생쥐체중 감소를 나타내었지만, 이러한 체중감소가 체지방 함량에 의한 감소인지는 생쥐의 체지방 함유량의 분석이 있어야 될 것으로 사료된다. 실험 종료 후 심장천자법으로 혈액을 채취하여 백혈구, 적혈구, 혈소판, 수와 헤모글로빈의 양을 측정된 결과, 동충하초 첨가에 의하여 적혈구 숫자와 헤모글로빈의 양이 증가하였다 이는 동충하초가 갖은 조혈 증진 효과라고 사료된다. 그리고 혈청 중 mL-4와 mIFN- $\gamma$ 의 농도를 측정된 결과 5%Kimchi군이 25.6%, 그리고 5%Kimchi-2%CDSE군이 대조군에 비하여 모두 증가하였다. 이는 면역계가 외래항원에 접촉하면 림프구가 활성화되고 체액성 및 세포성 면역반응이 유도되는 일련의 반응이 일어난다. 그중 T 림프구는 일차적으로 여러 다양한 림프구 집단의 성장과 분화를 조절하는 여러 가지 사이토카인을 분비함으로써 T 림프구 의존성 면역반응의 활성화단계 (activation phase)에서 중요한 역할을 갖게된다. T 림프구는 Th1과 Th2로 구분되며, IL-4 분비의 주요 근원세포는 주로 Th2 세포인 CD4 T 림프구이다. 또한 IL-4는 항체를 생산하는 B 림프구의 성장과 분화를 유도하여 체액성 면역에 중요한 역할을 담당하는 것으로 알려져 있다. IFN- $\gamma$ 는 면역인터페론 혹은 제II형(type II) 인터페론으로 부르고 있으며, IFN- $\gamma$ 는 활성화된 CD4 및 CD8 T 림프구, 그리고 NK 세포에 의해서 생성된다. IFN- $\gamma$ 는 T 림프구에 작용하여 이들의 분화를 증진하여, 생쥐에서 본래의 CD4 T 림프구에서

Th1 림프구의 분화를 촉진시키며, Th2 림프구의 증식을 억제하고, 식균 세포 매개성 미생물의 제거에 참여하는 항체반응을 유도한다. 또한 NK 세포의 세포 용해능을 자극하여 생체면역 증진에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 또한 비장을 적출하여 무게와 비장 면역세포 중 CD3e+/CD4+, CD3e+/CD8+, B220+의 활성세포를 관찰하여 유의한 결과를 얻었다. 이러한 결과는 지금까지 많은 연구자들이 유산균과 같은 발효식품의 항암효과에 대하여 연구하였으며, 그 기작이 여러 가지 면역활성 효과에 의한 것임을 보고하였다(21,22,23). 그리고 Seo등은 유산균의 경구투여가 장내분비 항체와 특이 항체생산 세포의 증가와 함께 T세포 및 대식세포에 의한 싸이토카인 생산량의 증가를 가져온다는 연구결과와 일치하였으며(24), 김치와 동충하초 추출물이 생쥐의 Th1과 Th2 세포의 활성을 조절하는 것으로 추측되고, 이는 생쥐의 면역증진에 효과가 있을 것으로 사료된다. 또한 CD3e+/CD4+와 CD3e+/CD8+의 수에서도 5%Kimchi군과 5%Kimchi-2%CDSE군이 C군에 비하여 현저한 증가를 관찰할 수 있었다. 이러한 결과는 백혈구 수의 변화가 없는 상태에서 비활성 면역세포가 김치의 섭취로 인하여 활성면역세포로 전환된 것으로 추측되고, 활성면역세포의 증가는 동충하초 추출물이 면역기능 증진에 영향을 주어 나타난 요인이라 생각된다(25,26). 그러나 생체 내에서 면역증진은 T 임파구와 B 임파구의 CD4, CD8, 그리고 B220 표면분자의 발현 증가 외에도 CD25, CD28, CD44, CD69, CD80 (B7)등의 활성화가 병행되고, IL-2, IL-4, IFN- $\gamma$ 등의 싸이토카인의 방출량이 증가되어야 세포성 면역과 체액성 면역의 증진으로 병원체에 의한 항병력이 증진된다고 할 수 있다.

## 결론

안택원 외 2인 : 동충하초 추출물을 첨가한 발효김치의 급여가 생쥐의 면역작용에 미치는 영향

김치첨가와 동충하초 첨가김치를 발효한 후 동결건조하여 분말사료에 5%로 혼합하여 생쥐에 자유식으로 14일간 급여하였다. 실험식이의 급여에 따른 체중의 변화와 식이 섭취량등을 측정하였고, 실험 종료 후 심장 천자법으로 혈액을 채취하여 백혈구, 적혈구, 혈소판, 헤모글로빈의 수를 관찰하였고, 그리고 혈청중 mL-4와 mIFN- $\gamma$ 의 농도를 측정하였다. 또한 비장을 적출하여 무게와 비장면역세포 중 CD3e+/CD4+, CD3e+/CD8+, B220+의 활성세포를 관찰하여 유의한 결과를 얻었다. 본 연구 결과로는 5%Kimchi군과 5%Kimchi-2%CDSE군이 C군에 비하여 식이 섭취량이 감소를 나타내었고, 두 김치 첨가군에서 동충하초 추출물을 첨가하여 급여한 군에서 약 10%의 생쥐체중 감소를 보였다. 혈액의 변화는 백혈구수와 혈소판수는 모든 군에서 차이가 없었고, 적혈구수와 헤모글로빈수는 C군에 비하여 5%Kimchi군과 5%Kimchi-2%CDSE군이 증가를 나타내었다. 생쥐의 혈청을 분리하여 혈청중 mL-4와 mIFN- $\gamma$ 의 생산량을 ELISA로 측정하여 5%Kimchi군과 5%Kimchi-2%CDSE군에 대한 영향을 관찰하고자 하였다. 그리고 혈청내 싸이토카인 생산량은 5%Kimchi군과 5%Kimchi-2%CDSE군이 C군에 비하여 유의한 증가를 관찰할 수 있었다. 이러한 결과는 김치와 동충하초 추출물이 생쥐의 Th1과 Th2 세포의 활성을 조절하는 것으로 추측되고, 이는 생쥐의 면역증진에 효과가 있을 것으로 사료된다. 또한 CD3e+/CD4+와 CD3e+/CD8+의 수에서도 5%Kimchi군과 5%Kimchi-2%CDSE군이 C군에 비하여 현저한 증가를 관찰할 수 있었다. 이러한 결과는 김치와 동충하초 추출물에 의한 면역세포를 활성화시키는 효능을 갖고 있음을 추측할 수 있었고, T 림프구의 활성이 IL-4와 IFN- $\gamma$ 에 의하여 조절된다고 했을 때 본 연구에서 mL-4와 mIFN- $\gamma$ 의 생산량 측정결과와 일치하였다. 또한 B 림프구(B220+)의 수는

CD4+와 CD8+의 상대수치로 인하여 비례적으로 감소한 것으로 사료된다.

## 참고문헌

1. Kim MJ, Kwon MJ, Song YO, Lee EK, Youn HJ, Song YS. The effects of Kimchi on hematological and immunological parameters in vivo and in vitro. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 26(2), 1208-1214, 1997
2. Choi HJ, Lee HS, Her S, Oh DH, Yoon SS. Partial characterization and cloning of leuconocin J, a bacteriocin produced by *Leuconostoc* sp. J2 isolated from the Korean fermented vegetable Kimchi. *J Appl Microbiol* 86(2): 175-81, 1999
3. Cheigh HS, Park KY. Biochemical, microbiological, and nutritional aspects of kimchi (Korean fermented vegetable products). *Crit Rev Food Sci Nutr* 34(2): 175-203, 1994
4. Kato I, Yokokura T, Mutai M. Macrophage activation by *Lactobacillus casei* in mice, *Microbiol Immunol*, 27: 611-618, 1983
5. Popova P, Guencheva G, Dvidkova G, Bogdanov G, Pacelli E, Opaichenova G, Kutzarova T, Koychev C. Stimulating effect of DEODAN (an oral preparation from *L. bulgaricus* LB51) on monocytes/macrophages and host resistance to experimental infections, *Int. J. immunopharmacol.*, 15: 25-37, 1993
6. Matsuzaki T, Hashimoto S. and Yokokura T. Effects on antitumor

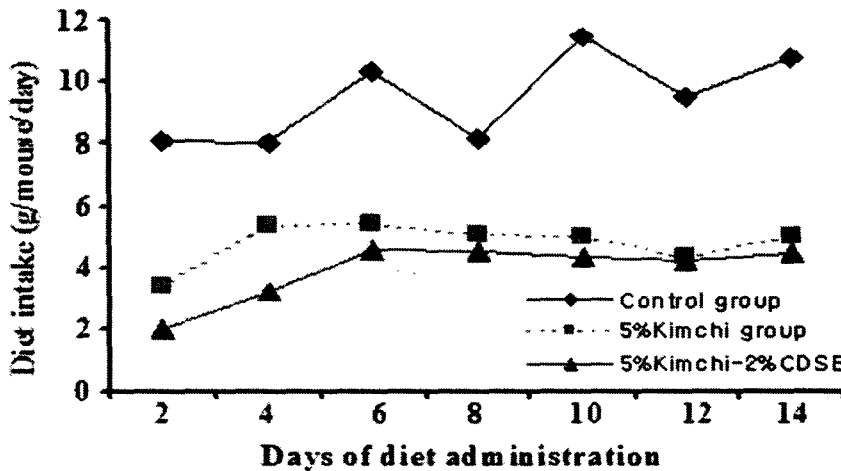


- activity and cytokine production in the thoracic cavity by intrapleural administration of *L. casei* in tumor-bearing mice, *Med., Microbiol. Immunol.*, 185: 157-161, 1996
7. Bordia A, Arora SK, Kothari LK, Jain KC, Rathore, BS. The protective action of essential oils of onion and garlic in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis*, 22: 103, 1975
  8. Kandil OM, Abdullah TH, Elkada A. Garlic and immune system in human: it's effects on natural killer cell. *Fed. Proc.*, 46: 441, 1987
  9. Wasapruet S, Poolsuppasit S, Piholmukaruito O. Enganced fibrinolytic activity after xapsicum injestion. *N. Engl. J. Med.*, 290: 1259, 1974
  10. Kanddil OM, Abdullah TH, Elkada A. Garlic and immune system in human: it's effects on natural killer cell. *Fed. Proc.*, 46: 441, 1987
  11. Gilliland SE, Nelson CR, Maxwell C. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 49, 377, 1985
  12. Bloksma N, Etekooven J, Hofhufs FM. Effects of lactobacilli on parameters of nonspecific resistance. *Med. Microbiol. Immunol.*, 170, 45, 1991
  13. Yang LY, Chen A, Kuo YC, Lin CY. Efficacy of a pure compound H1-A extracted from *Cordyceps sinensis* on autoimmune disease of MRL lpr/lpr mice. *J Lab Clin Med* 134(5): 492-500, 1999
  14. Lin CY, Ku FM, Kuo YC, Chen CF, Chen WP, Chen A, Shiao MS. Inhibition of activated human mesangial cell proliferation by the natural product of *Cordyceps sinensis* (H1-A): an implication for treatment of IgA mesangial nephropathy. *J Lab Clin Med* 133(1): 55-63, 1999
  15. Chiu JH, Ju CH, Wu LH, Lui WY, Wu CW, Shiao MS, Hong CY. *Cordyceps sinensis* increases the expression of major histocompatibility complex class II antigens on human hepatoma cell line HA22T/VGH cells. *Am J Chin Med* 26(2): 159-70, 1998
  16. Zhu JS, Halpern GM, Jones K. The scientific rediscovery of an ancient Chinese herbal medicine: *Cordyceps sinensis*: part I. *J Altern Complement Med* 1998 4(3): 289-303, 1998
  17. Zhu XY, Yu HY. Immunosuppressive effect of cultured *Cordyceps sinensis* on cellular immune response. *Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi* 10(8): 485-487, 1990
  18. Yamaguchi N, Yoshida J, Ren LJ, Chen H, Miyazawa Y, Fujii Y, Huang YX, Takamura S, Suzuki S, Koshimura S. Augmentation of various immune reactivities of tumor-bearing hosts with an extract of *Cordyceps sinensis*. *Biotherapy* 2(3): 199-205, 1990
  19. AIN standard for nutritional studies report. *J Nutr* 107: 1340-1348, 1977
  20. Kim JY, Lee YS. The effects of Kimchi intake on lipid contents of body and mitogen response of spleen lymphocytes in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 26(2), 1200-1207,

1997

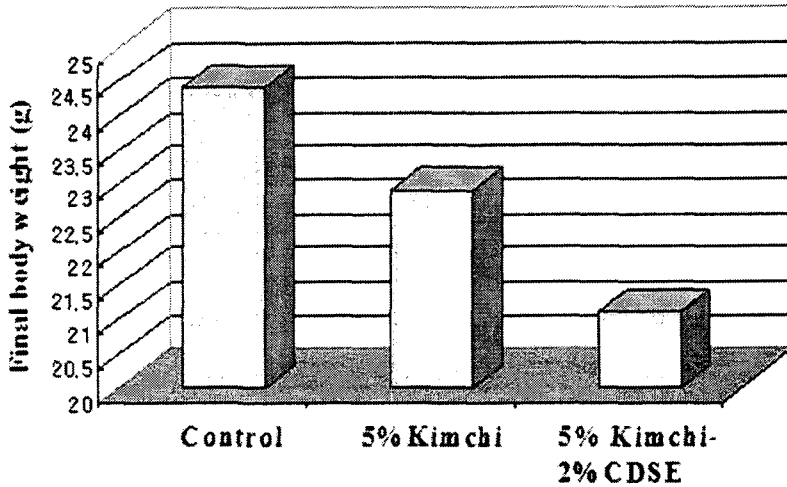
21. Yasutake N, Kato I, Ohwaki M, Yokokura T, Mutai M. Host-mediated antitumor activity of *Lactobacillus casei* in mice, *Gann*, 75, 72-80, 1984
22. Nanno M, Ohwaki M, Mutai M. Induction by *Lactobacillus casei* of increase in macrophage colony forming cells and serum colony-stimulating activity in mice, *Jpn J. Cancer Res*, 77, 703-710, 1986
23. Kostiuk OL, Chernyshova, Volokha A. The current concept of the influence of *Lactobacillus* on the immune system of the human body, *Fiziol Zh (Abstract)*, 43, 106-115, 1997
24. Seo KS, Chae O, Park I, Hong S, Choe T. Atitumor effects of mice fed with cell lysate of *Lactobacillus plantarum* isolated from Kimchi, *Korean J. Biotechol. Bioeng.*, 14(4), 357-363, 1998
25. Fernands CF, Shahani KM. Anticarcinogenic and immunological properties of dietary *Lactobacilli*. *J. Food Prot.*, 53: 717, 1990
26. Chen GZ, Chen GL, Sun T, Hsieh GC, Henshall JM. Effects of *Cordyceps sinensis* on murine T lymphocyte subsets, *Chin Med J (Engl)*, 104(1), 4-8 1991

Fig. 1 Food intake in mice fed 5%Kimchi-free diet or diet containing 5% Kimchi and 2%CDSE supplementation



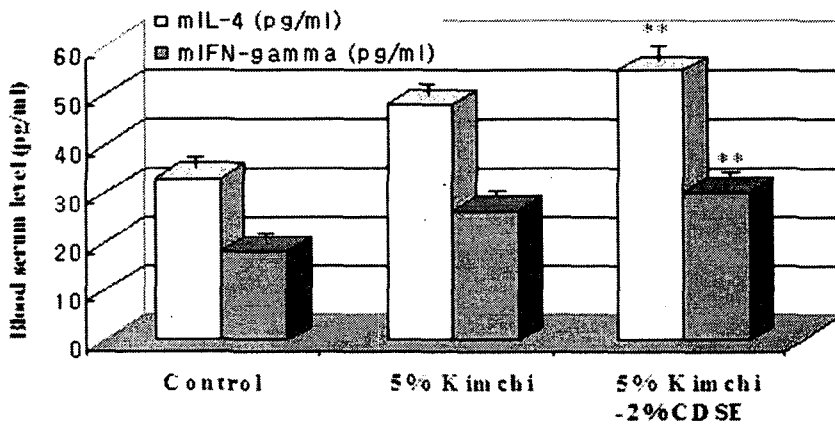
Balb/c mice fed 5%Kimchi and 5%Kimchi-2%CDSE (*Cordyceps sinensis* supplementation) containing fed experimental diet during 2 weeks. Time course of food intake was measured for diet intake weight on two interval day. All mice were conducted one for free-diet and not supplemented diet mice control group. Mice were used in group of 10.

Fig. 2 Effect of final body weight in mice fed 5%Kimchi-free diet or diet containing 5% Kimchi and 2%CDSE supplementation



After 2 weeks, measured for body weight of Balb/c mice fed 5%Kimchi and 5%Kimchi-2%CDSE containing fed experimental diet. All mice were conducted one for free-diet and not supplemented diet mice control group. Mice were used in group of 10.

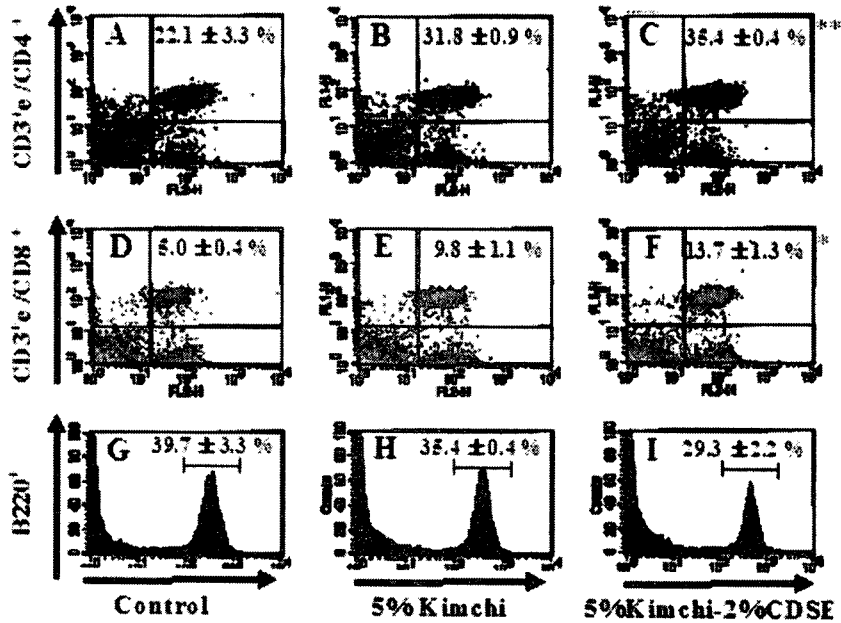
Fig. 3 Effect of feeding of 5%Kimchi-free diet or diet containing 5% Kimchi and 2%CDSE supplementation on the mIL-4 and mIFN- $\gamma$  blood serum level in mice.



The mice serum were collected after 2 weeks, mIL-4 and mINF- $\gamma$  production in the blood serum was assay by ELISA kit. Balb/c mice fed 5%Kimchi and 5%Kimchi-2%CDSE containing fed experimental diet. All mice were conducted one for free-diet and not supplemented diet mice control group. Mice were used in group of 10.

안택원 외 2인 : 동충하초 추출물을 첨가한 발효김치의 급여가 생쥐의 면역작용에 미치는 영향

Fig. 4 Representative flow cytometric analyses of CD4+, CD8+, and B220+ cell population in mouse spleen fed 5%Kimchi-free diet or diet containing 5% Kimchi and 2%CDSE supplementation



After 2 weeks, isolated splenic cells of Balb/c mice fed 5%Kimchi (B, E, H panel) and 5%Kimchi- 2%CDSE (C, F, I panel) containing fed experimental diet. All mice were conducted one for free-diet and not supplemented diet mice control group (A, D, G panel). The numbers of splenic CD4, CD8, and B220 positive cells were analyzed by flow cytometer (FACS). Data represent means±S.E (N=10). Statistically significant value compared with 5%Kimchi group data by T test (\*p<0.05, \*\*p<0.01,\*\*\*p<0.001).