

마우스를 이용한 송화분 섭취의 면역원성 및 안전성 탐색

김영옥¹ · 김광호² · 박현지³ · 박영철⁴ · 박성욱⁴ · 허용^{4,5}

¹식품의약품안전청 의약품평가부 의약품규격과, ²주식회사 켄온 일반독성실,
³한국생명공학연구원 바이오평가센터 질환동물모델평가연구실, ⁴대구가톨릭대학교 바이오안전성센터,
⁵대구가톨릭대학교 자연대학 산업보건학과

Immunological Activity and Immunotoxicity of Pine Tree Pollen in Mice

Young Ok Kim¹, Kwang Ho Kim², Hyun Ji Park³, Yeong Chul Park⁴, Sung Wook Park⁴ and Yong Heo^{4,5}

¹Korea Food & Drug Administration, Center for Drug Evaluation, Division of Drug Standard, Seoul, 122-704

²Chemon Inc., Department of General Toxicology, Yongin si 449-916

³Korea Research Institute of Bioscience & Biotechnology, Experimental Animal Laboratory, Daejeon 305-333

⁴Catholic University of Daegu, Center for Bio-Safety, Kyongsan si 712-702

⁵Catholic University of Daegu, College of Natural Sciences, Dept. Occupational Health, Kyongsan si 712-702, Korea

Received July 21, 2005; Accepted September 8, 2005

ABSTRACT. Pollen has been used for prevention or treatment of certain diseases such as diabetes, arthritis, or cancer in traditional medicine. Among various pollens, pine tree pollen is known to relieve hypertension, suppress fatty liver progression, and facilitate the digestion, but its immunological activities are less known. To evaluate immunological reactivities and immunotoxicities of pine tree pollen, BALB/c mice were administered to the pollen through oral route. Pine tree pollen suspended in distilled water or extracted with methanol has been administered at the concentration of 0, 10, or 100 mg/kg, five days per week for four weeks. Polyclonal activation of splenic T cells with phytohemagglutinins did not induce a significant difference in IL-4 and IFN γ production between the pollen-administered mice groups and the control mice. Furthermore, polyclonal activation of splenic B cells with lipopolysaccharides did not result a significant difference in IgG1 and IgG2a production among the groups. These findings imply that the intake of pine tree pollen does not bring any humoral and cellular immune-dysregulation. Whereas, viability of *Listeria monocytogenes* was suppressed in the mice administered with 100 mg/kg bw methanol extract, indicating the potential ability of pine tree pollen to enhance cell-mediated immunity mediated by type-1 helper T cells. In addition, aberrant upregulation of plasma IgG1 level was observed in the pollen-administered mice, which suggests a possibility of allergic response induction through the pine tree pollen uptake. Overall, pine tree pollen-mediated modulation of humoral or cellular immunity is worthy of further systematic investigation.

Keywords: Pine tree pollen, *Listeria*, mice, Humoral and cell-mediated immunity.

서 론

국제적으로 기능성 식품의 성분들에 대한 질병치료 또는

Yong Heo, Department Occupational Health, College of Natural Sciences, Catholic University of Daegu 330 Kumrak 1 ri, Hayang eup, Kyongsan si, Kyongbuk 712-702, Korea
E-mail: yheo@cu.ac.kr

List of abbreviations: IL-4, interleukin-4; IFN γ , interferon gamma; ELISA, sandwich enzyme-linked immunosorbent assay; LPS, lipopolysaccharides; PHA, phytohemagglutinin

예방효과여부를 연구하는 분야는 대체의학의 대두와 더불어 관심이 고조되고 있는데(Zubillaga *et al.*, 2001), 대표적으로 녹차의 위장관계 암 발생 억제 효과(Weisburger, 1999), 마늘의 고혈압 및 혈중 콜레스테롤 증가 억제(Silagy and Neil, 1994; Steiner *et al.*, 1996), 브로콜리의 항암작용을 예로 들 수 있다(van Poppel, 1999). 기능성 식품 개발은 식물이 주요 연구 대상으로 주로 열매나 뿌리, 잎이 이용되고 있으며(Kobayashi *et al.*, 2001), 꽃가루(花粉)의 인체 생리 활성화에 미치는 기능성에 대해서도 일부

연구되고 있다(Yasumoto *et al.*, 1995; MacDonald *et al.*, 2000). 한편, 식물의 건강기능식품원으로서 유효성 연구와 더불어 안전성에 대한 보다 철저한 검사가 이루어져야 할 것이라는 주장들이 국제적으로 대두되고 있다(Hasler *et al.*, 2001; Kruger and Mann, 2003). 특히 기능성 식품이 통상적인 식품처럼 전반적으로 안전하다고 여겨지기 위해서는 성분중 약리적으로 비활성화 물질에 대한 독성 발현 검사의 필요성도 언급되고 있다.

이에 본 연구에서는 기능성 건강보조식품원으로 이용되고 있는 여러 가지 화분 중에서 항고혈압, 지방간 해소, 소화촉진 등에 효과가 있다고 알려져 있지만(이시진, 1994; 이영주 등, 1994; 한준표, 1997) 면역학적 측면에서는 연구가 전무한 송화분(松花粉)의 섭취에 따른 면역기능 조절 능력과 면역학적 안전성을 마우스를 이용하여 분석하였다. 송화분의 주요 구성 성분은 탄수화물 63%, 조단백질 15%, 조지질 5% 정도로 특히 송화분 섭취시 고지혈증을 개선할 수 있는 효과가 국내에서 연구, 보고되고 있다(한준표, 1997). 송화분과 같은 화분의 면역기능조절능력은 암세포 파괴능력이나 세균증식억제 효과 등이 대표적으로 보고되고 있으며 알레르기성 비염이나 천식 증상 완화효과도 보고된 바 있다(Kobayashi *et al.*, 2001; Wilson *et al.*, 2001). 반면, 화분내 특정 단백질에 감작됨으로써 추후 화분단백질과 교차 항원성을 가지는 단백질이 함유된 과일 또는 야채를 섭취함으로써 IgE가 매개하는 과민반응이 유발될 수도 있다는 보고도 발표되면서 추후 개발하고자 하는 화분을 이용한 기능성식품에 대한 면역독성연구의 필요성을 제기하고 있다 (Crivellaro *et al.*, 2000; Sicherer, 2001).

본 연구는 화분의 면역안전성 및 유효성을 평가하는 연구의 일환으로 수행되었는데 일차적으로 마우스 위장관내로 송화분을 4주 반복투여 후 혈장내 IgG isotype의 분포, 비장 T 임파구의 cytokine 생성능력, *Listeria monocytogenes* 병원성 세균 감염에 대한 방어력 평가 등을 중심으로 체액면역 및 세포면역에 있어서 송화분 섭취의 영향을 평가하였다.

재료 및 방법

실험동물

8주령의 특정병원체부재(specific pathogen free) 스킷 BALB/c mice를 대한바이오링크회사로부터 구입하여 무균적으로 관리하면서(사육실 온도 : 25°C, 습도: 55%, 멸균 증류수 공급) 실험하였다. 마우스는 화분의 투여량에 따라 10 및 100 mg/kg 체중 투여군과 증류수 투여 대조군으로 나뉘었으며, 각 군당 8마리씩의 마우스를 사용하

고 2회 반복 실험하였다. 송화분 1회 투여 용량은 200 μ 였고 4주간 주 5회씩 위장관내 투여(gastric intubation)하였다. 일주일 2회씩 3일 간격으로 몸무게를 측정하였으며, 투여 종료 3일 후 마우스를 심장채혈을 통해 혈액을 EDTA vacutainer tube에 채취하고 희생 부검한 뒤 비장을 세포 배양을 위해 무균적으로 적출하였다. 혈액에서 분리된 혈장은 사용 전까지 -80°C 냉동고에 보관하였다.

투여용 송화분 제조

시중에서 판매되는(장생기업) 송화분을 구입하여 일차적으로 분말의 송화분을 3차 증류수를 이용하여 현탁액을 만들어 사용하였다(pollen suspension). 아울러 송화분 분말 25 g을 메탄올에 24시간 침적시킨 후 3회 반복하여 메탄올 추출액을 얻은 다음, 2회에 걸쳐 필터링하고 evaporator로 감압 농축한 뒤 동결건조하여 얻은 추출물을(최종적으로 2.92 g 얻음) 3차 증류수에 용해시켜 사용하였다(pollen extract)(황과 이, 2003).

혈장내 IgE 및 IgG 측정

혈장내 존재하는 IgE 수준을 대조군 마우스와 비교분석하기 위해 sandwich ELISA 방법에 의해 total IgE를 정량하였다(허와 김, 2002). 또한 IgG의 isotype인 IgG1 및 IgG2a의 수준을 측정하기 위해서는 goat-anti mouse IgG1 및 IgG2a(Serotec, Raleigh, NC) capture antibody와 peroxidase conjugated anti-mouse IgG detection antibody를 사용하는 sandwich ELISA 방법을 이용하였다.

비장세포 배양액내 cytokine 및 IgG 측정

IgE 및 IgG1의 isotype switching을 유도하는 interleukin-4(IL-4)를 중심으로 한 type-2 cytokine과 이 cytokine들의 역할에 길항작용을 미치는 interferon-gamma (IFN γ) 등 type-1 cytokine들의 생산능력을 비교 분석하는 것은 기본적인 세포면역능을 평가하는 방법으로 고려되고 있다(Snapper and Paul, 1987; Heo *et al.*, 1996). 이를 위해 각 마우스에서 비장을 채취한 뒤 이 비장세포들을 24 well-culture plate에 분주한 뒤 CO₂ 배양기에서 48시간 배양하였다. 이 때 *in vitro* 활성화를 위해 polyclonal stimulator로 phytohemagglutinin(PHA, 5 μ g/1 \times 10⁶ cells, Sigma)을 첨가하였고, 세포배양액내 cytokine 수준 정량은 sandwich ELISA 방법에 의하였다(Heo *et al.*, 1998). 각 cytokine 별 lower detection limit는 다음과 같다: IL-4(4 pg/ml), IFN γ (100 pg/ml).

B 임파구의 *in vitro* 활성화를 위하여 B 임파구 특이 polyclonal stimulator인 lipopolysaccharide(LPS, 1 μ g/

1 × 10⁶ cells, Sigma)를 첨가한 후 일주일간 배양하였고, 배양액 내 IgG1 및 IgG2a의 수준 정량은 혈장내 IgG와 동일한 sandwich ELISA 방법에 의하였다(Tian *et al.*, 2001).

Listeria 공격 시험

본 실험을 위해서는 송화분 메탄올 추출물 10 및 100 mg/kg 투여군과 증류수 투여 대조군으로 나뉘었으며 각 군당 5마리씩의 마우스를 사용하였고, 4주간 주 5회씩 위 장관내 투여하였다. 송화분 투여 종료일 당일에 세포내 기생 세균으로서 감염에 대한 숙주의 방어력 평가 시험에서 많이 이용되는 *Listeria monocytogenes*를 1.5 × 10⁵ colony forming units(CFUs)로 하여 꼬리정맥내로 주사한 뒤 72시간 후에 회생 부검하여 간과 비장을 무균적으로 적출하였다. 이 장기들을 생리식염수를 사용하여 균질화한 다음, blood heart infusion agar(Difco, Sparks, MD, USA) plate에 계대 희석하여 접종한 뒤, 48 시간 동안 37°C 배양기에서 배양한 후 세균(viable bacteria)의 수를 계산하였다(Bradley, 1995).

통계처리

각 군간 측정치의 유의한 차이는 SigmaPlot 통계프로그램(SPSS, Chicago, USA)을 이용하여 검토하였다. single factor ANOVA 와 Dunnett's *t*test로 유의성을 검정하였다. 필요에 따라 Student's *t*test 또는 Mann-Whitney test로 추가 유의성 검정을 시행하였고 *p* value 가 0.05 이하일 때를 유의한 차이로 판정하였다. 결과에서 *는 *p*<0.05 수준에서 통계적으로 유의한 차이가 있음을 나타내었다.

결과 및 고찰

송화분 투여의 체액면역에 미치는 영향

일차적으로 4주간 송화분을 위장관내 투여한 마우스와 3차 증류수를 투여한 대조군 마우스간 체중의 차이를 분석한 결과(Table 1), 체중 kg 당 10 및 100 mg의 송화분 현탁액 또는 송화분 메탄올 추출물을 투여한 실험군들 및 대조군 사이에서는 유의한 체중의 차이를 관찰할 수 없었다.

다음으로 혈장 IgG1, IgG2a, IgE 수준 및 비장 B 임파구 배양액내 생성된 IgG1과 IgG2a 수준을 측정함으로써 송화분 투여의 체액면역에 미치는 개괄적인 영향을 평가하였다. 혈장내 IgG1 수준은 증류수를 투여한 대조군에 비해 송화분을 투여한 실험군에서 대체적으로 높았는데 특히 100 mg/kg의 송화분 현탁액을 투여한 실험군의 IgG1 수준은 10 mg/kg의 송화분 현탁액 또는 메탄올 추

Table 1. Change in body weight (g) of BALB/c mice administered with the pine tree pollen or vehicle

Administration	Mean ± SD		
	Day 0	Week 2	Week 4
Pollen suspension (mg/kg)			
10	23.0 ± 0.8	23.7 ± 0.9	24.4 ± 1.5
100	22.2 ± 1.2	24.8 ± 1.4	25.6 ± 1.4
Pollen extract (mg/kg)			
10	22.7 ± 0.6	24.3 ± 1.0	25.1 ± 1.3
100	22.7 ± 1.6	24.6 ± 0.4	25.0 ± 0.2
Vehicle	24.0 ± 0.6	24.6 ± 0.6	25.2 ± 0.6

Values represent the means ± SD of the duplicated experiments (n = 16).

출물 투여군이나 대조군에 비해 유의하게 높았으며(Table 2), 10 mg/kg의 송화분 메탄올 추출물 투여군 역시 10 mg/kg의 송화분 현탁액을 투여한 실험군이나 대조군에 비해 유의하게 높았다. 반면, 혈장내 IgG2a 수준은 군간에 유의한 차이가 없었다. B 임파구 배양액내 생성된 IgG1 및 IgG2a 수준 또한 대조군에 비해 유의하지는 않았지만 송화분 투여 실험군에서 높았다. 아울러 혈장 IgE 수준 역시 대조군에 비해 송화분 투여 실험군에서 높았는데 10 mg/kg의 송화분 현탁액 투여군의 IgE 수준은 대조군에 비해 통계적으로도 유의하게 높았다. 이러한 결과는 현재로서는 확정짓기는 어렵지만 송화분 섭취가 B 임파구의 항체 생성과 관련한 항상성(homeostasis)에 어떠한 영향을 미칠 가능성을 시사하는 것으로 여겨진다. 특히 혈장내 IgG1과 IgE 수준의 증가는 송화분 자체가 알레르기 항원으로 작용할 수 있음을 추론케 한다. 이러한 추론은 IgE 및 IgG1은 Helper T cell의 한 종류인 type-2 helper T cell에서 분비되는 IL-4에 의하여 isotype switching이 유도되는 항체로서 호흡기 과민반응 등 알레르기성 과민반응 발생시 증가되는 항체라는 사실에 근거한다(Krishnan *et al.*, 1996; Oshiba *et al.*, 1996; Heo *et al.*, 2001).

한편, IgG2a와 IgG1 농도비(IgG2a/IgG1 ratio)는 바이러스나 암세포에 대한 저항력을 나타내는 type-1 response 와 천식, 아나필락시스와 같은 알레르기 반응으로 대표되는 type-2 response가 개체별로 어느 한쪽으로 편향되어 있는지를 추측하는 지표치로 이용되기도 한다(Gans *et al.*, 2003; Margalit *et al.*, 2005). 즉, IgG2a는 바이러스나 암세포에 대한 면역반응을 매개하는 IFN γ 에 의해서 isotype switching이 유도되고 IFN γ 의 기능이나 생성을 억제하는 IL-4에 의해서는 IgG1이나 IgE의 isotype switching이 유도되기 때문이다. *In vitro*에서 B 임파구를 활성화시켜 IgG1과 IgG2a 생성을 유도하고 각 항체의 상대적인 수준을 농도비로 계산한 결과(Table 2), 송화분 투여군들과 대조군 사이에서 유의한 차이는 없었다. 아울러

Table 2. Immunoglobulin concentrations in the plasma or culture supernatants of BALB/c mice administered with the pine tree pollen or vehicle

Administration	Mean \pm SD						
	Plasma			Ratio	Culture supernatants		
	IgG1 (mg/ml)	IgG2a (mg/ml)	IgE (ng/ml)		IgG1 (ng/ml)	IgG2a (ng/ml)	Ratio
Pollen suspension (mg/kg)							
10	3.6 \pm 1.0	1.9 \pm 0.8	1436 \pm 429***	0.5 \pm 0.1	817 \pm 1084	1971 \pm 1730	4.2 \pm 2.2
100	8.5 \pm 2.6*	2.9 \pm 1.1	1397 \pm 1260	0.4 \pm 0.1	232 \pm 199	826 \pm 720	7.2 \pm 9.3
Pollen extract (mg/kg)							
10	5.0 \pm 0.8**	2.7 \pm 1.3	869 \pm 553	0.5 \pm 0.2	163 \pm 153	654 \pm 650	5.1 \pm 6.5
100	17.3 \pm 17.5	6.9 \pm 5.4	909 \pm 953	0.7 \pm 0.6	413 \pm 474	1025 \pm 713	20.8 \pm 18.1
Vehicle	3.5 \pm 0.9	3.0 \pm 1.5	348 \pm 324	1.0 \pm 0.7	80 \pm 95	320 \pm 348	10.7 \pm 11.3

Values represent the means \pm SD of the duplicated experiments (n = 16). The ratios were obtained through dividing amount of IgG2a by amount of IgG1 in the each individual sample.

*Indicates the significantly (p<0.05) higher IgG1 level than that of the crude pollen 10 mg/kg, pollen extract 10 mg/kg, and vehicle-administered control mice.

**Indicates the significantly higher IgG1 level than that of the crude pollen 10 mg/kg-administered and the control mice.

***Indicates the significantly higher IgE level than that of the control mice.

혈장내 각 항체의 수준을 비로 계산한 결과에서도 군간에 유의한 차이가 없었다. 본 결과는 4주간 위장관내로 송화분을 투여한 경우, 대조군에 비해 B 임파구 항체 생성 수준에 근거한 type-1 response와 type-2 response에 있어서 어느 한쪽으로 선택적으로 편중되지는 않더라도 특정 항체의 절대적 수준의 증가에 기인한 체내 면역체계 불균형을 초래할 가능성도 있음을 제시하는 것이라 생각된다.

송화분 투여의 세포면역에 미치는 영향

IL-4와 IFN γ 는 각각 type-2 helper T cell과 type-1 helper T cell에서 분비되는 대표적인 cytokine으로서 어느 한쪽의 cytokine 분비가 우세할 때는 다른 cytokine의 합성 및 분비가 저해되는 상호 길항작용을 가지고 있어 체내 type-2 response와 type-1 response간 세포면역의 항상성 유지여부를 판단하는 주요한 척도로 이용되고 있다(Krishnan *et al.*, 1996). 최근에는 type-2 cytotoxic T cell과 type-1 cytotoxic T cell에서도 각각 IL-4와 IFN γ 가 분비되는 것으로 보고된 바 있다(Vukmanovic-Stejić *et al.*, 2000). 이들 cytokine 생성에 있어서 항상성 조절의 이상이 있을 때는 여러 가지 면역병리학적 이상 상태를 가져오는데, 특히 type-2 response가 상대적으로 우세할 때는 세균, 바이러스 등 미생물 감염에 대한 방어력 저하, 알레르기 발생, 일부 자가면역질환 발생 등을 촉진하는 것으로 알려져 있다(Prigent *et al.*, 1995).

비장세포 중에서 T 임파구만을 활성화시키는 PHA를 사용하여 송화분 투여 실험군 및 대조군의 비장 T 임파구를 *in vitro*에서 활성화시킨 결과, 송화분 투여군들과 대조군 사이에서 통계적으로 유의한 IL-4와 IFN γ 생성의 차

Table 3. Cytokine concentrations in the culture supernatants of BALB/c mice administered with the pine tree pollen or vehicle

Administration	Mean \pm SD		
	IL-4 (pg/ml)	IFN γ (pg/ml)	Ratio
Pollen suspension (mg/kg)			
10	10.4 \pm 12.7	14631 \pm 24583	1822 \pm 2164
100	8.2 \pm 13.9	5800 \pm 7970	2110 \pm 2890
Pollen extract (mg/kg)			
10	14.3 \pm 19.2	6622 \pm 6761	3258 \pm 4798
100	14.9 \pm 10.5	17751 \pm 14851	1804 \pm 2218
Vehicle	5.6 \pm 5.2	3160 \pm 2863	514 \pm 372

Values represent the means \pm SD of the duplicated experiments (n = 16). The ratios were obtained through dividing amount of IFN γ by amount of IL-4 in the each individual sample.

이를 발견할 수 없었다(Table 3). 이 결과 역시 송화분 투여가 type-1 response와 type-2 response 중 어느 한쪽을 선택적으로 항진 또는 억제하는 비정상적인 세포면역 조절작용을 나타내지 않음을 시사하는 것으로 생각된다.

다음으로 *Listeria monocytogenes* 감염력 시험의 결과를 보면(Fig. 1), 대조군에 비해 100 mg/kg의 송화분 배탄을 추출물 투여군에서 *Listeria* 세균의 간 및 비장에서 생존 또는 증식이 저하되어 있음을 알 수 있다. 이러한 억제 기능은 송화분 섭취가 *Listeria* 세균에 대한 체내 살균작용을 증가시켰다는 의미를 함축하고 있는데, 적절한 양의 송화분 섭취가 type-1 helper T cell의 활성화를 촉진시킴으로써 IFN γ 분비가 증가되어 결과적으로 탐식세포의 기능 증강에 따른 *Listeria* 세균의 체내 증식 또는 생존이 억제되는 세포면역반응이 항진된 것이 원인이라

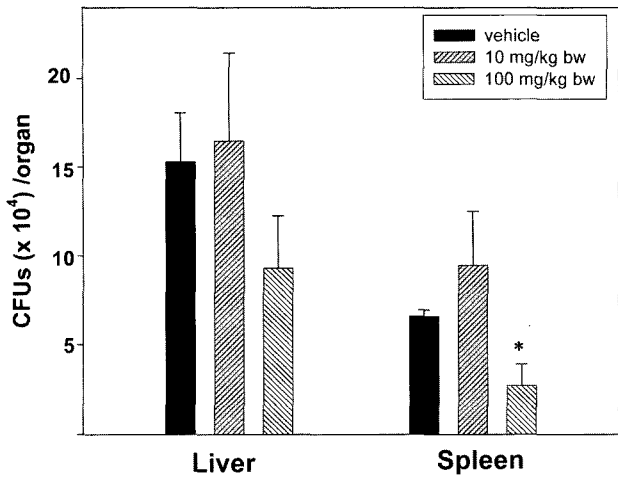


Fig. 1. *In vivo* assessment of the influence of pine tree pollen intake on the cell-mediated immune response of BALB/c mice to *Listeria monocytogenes*. Mice were given pine tree pollen extract or distilled water (vehicle) for 4 weeks 3 days before infection with 1.5×10^5 viable *L. monocytogenes*. Each bar represents the mean \pm SD (n = 5). * Indicates the significant difference compared with mice administered with distilled water or 10 mg kg pollen extract. CFU; colony forming units.

추론된다(Tripp and Unanue, 1995). 이 결과는 *in vitro* 에서 LPS에 의한 B 임파구 활성화(Table 2), PHA에 의한 T 임파구 활성화 (Table 3)실험을 통하여 도출한 송화분에 의해서 type-1 response가 선택적으로 항진되지는 않았다는 잠정적인 결론과는 일치되지 않는 것이다. 이러한 차이는 첫째, 임파구의 활성화 실험에 송화분 항원을 사용한 경우가 아니고 polyclonal stimulator를 사용함으로써 송화분 항원에 의하여 유도된 type-1 helper T cell의 편향적 활성화가 드러나지 못하였을 가능성이 있다. 둘째, 체중 kg 당 100 mg의 송화분 추출물을 투여한 마우스의 혈장내 IgG2a 수준이나 B 임파구 배양액내 IgG2a 수준, T 임파구 활성화에 따른 IFN γ 생성 수준 모두가 대조군 마우스에 비해 항진되었다는 점은 100 mg 송화분 추출물 투여의 type-1 response 유도 가능성이 있었지만 통계적인 유의성 결여로 의미있게 고려되지 못하게 되었다는 점을 지적할 수 있겠다.

결 론

본 연구는 전통의학에서 예방 및 치료 목적으로 사용되고 있으며 최근에는 기능성 식품으로서도 인지되고 있는 송화분을 화분 분말 자체 현탁액과 메탄을 추출물 상태로 마우스에게 위장관내로 4주 반복투여 후 송화분의 면역반응 조절 기능과 송화분 섭취의 면역안전성을 평가하였다.

혈장내 IgG2a/IgG1 비, 비장 B 임파구 활성화에 따른 IgG1과 IgG2a의 상대적 생성비, 비장 T임파구 활성화에 따른 IL-4와 IFN γ 생성비 등 주요한 면역학적 지표치에서 체중 kg 당 10, 100 mg의 송화분을 투여한 마우스와 대조군 마우스를 비교할 때 유의한 차이가 관찰되지 않았다. 이러한 결과는 송화분 섭취가 type-1 response와 type-2 response로 대표되는 체내 체액성/세포성 면역반응에 의미있는 영향을 미치지 않는다는 점으로 송화분 섭취의 면역안전성 확보차원의 긍정적인 측면이 있지만, 동시에 송화분의 병원체 감염이나 암발생 등에 대한 유의한 면역력 증강 작용은 확인하지 못했다는 점도 있다. 그러나 100 mg/kg 송화분 추출물을 투여하였을 때 *Listeria monocytogenes* 감염에 대해 방어력이 있음을 관찰한 바, 송화분의 면역원성에 대해서는 추후 보다 체계적인 연구의 필요성이 제기되었다는 점에서 본 연구의 의미를 부여할 수 있겠다. 또한 송화분 투여군의 경우 대조군에 비해 IgG1이나 IgE의 수준이 전반적으로 항진된 점은 송화분 섭취의 알레르기 과민반응 유도 가능성을 시사하는 것으로 이 점 역시 추후연구에서 보다 체계적으로 평가되어야 할 것이다.

감사의 글

본 연구에 사용된 *Listeria monocytogenes* 균주를 공급해주신 서울대학교 수의과대학 수의전염병학교실 유한상 교수와 송화분 메탄을 추출을 해주신 대구가톨릭대학교 생활과학대학 식품영양학과 최상원 교수께 감사드립니다.

참고문헌

이시진 (1994): 본초강목. 의성당.
 이명주, 박무희, 황성원, 배만중, 한준표 (1994): 송화분이 고지방식이 섭취 흰쥐의 혈청과 간장에 미치는 영향. 한국영양식량학회지, **23**, 192-197.
 한준표 (1997): 송화분이 흰쥐의 간장에 미치는 영향. 대구효성가톨릭대학 응과집, **5**, 227-233.
 허용, 김광호 (2002): 백신접종후 발생할 수 있는 전신적과민증 예측을 위한 아급성 실험동물 모형개발과 관련 면역독성학적 지표치 평가. 한국독성학회지, **18**, 205-213.
 황병호, 이태성 (2003): 붉은싸리버섯의 추출성분. 임산에너지, **22**, 37-42.
 Bradley, S.G. (1995): *Listeria* host resistance model in Methods in Immunotoxicology (G.R. Bureson, J.H. Dean, A.E. Munson, Eds.). Wiley-Liss, New York, pp. 169-179.
 Crivellaro, A.M., Senna, G., Riva, G., Cislighi, C., Falagiani, P., Canonica, W.G., and Passalacqua, G. (2000): Pollen mixtures used as health food may be a harmful source of allergens. *J. Invest. Allergy Clin. Immunol.*, **10**, 310-311.
 Gans, H., De Hovitz, R., Forghani, B., Beeler, J., Maldonado, Y. and Arvin, A.M. (2003): Measles and mumps vaccina-

- tion as a model to investigate the developing immune system: passive and active immunity during the first year of life. *Vaccine*, **21**, 3398-3405.
- Hasler, C., Moag-Stahlberg, A., Webb, D. and Hundall, M. (2001): How to evaluate the safety, efficacy, and quality of functional foods and their ingredients. *J. Am. Diet Assoc.*, **101**, 733-736.
- Heo, Y., Parsons, P.J. and Lawrence, D.A. (1996): Lead differentially modifies cytokine production *in vitro* and *in vivo*. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **138**, 149-157.
- Heo, Y., Lee, W.T. and Lawrence, D.A. (1998): Differential effects of lead and cAMP on development and activities of Th1- and Th2-lymphocytes. *Toxicol. Sci.*, **43**, 172-185.
- Heo, Y., Saxon, A. and Hankinson, O. (2001): Effect of diesel exhaust particles and their components on the allergen-specific IgE and IgG1 response in mice. *Toxicology*, **159**, 143-158.
- Kobayashi, N., Unten, S., Kakuta, H., Komatsu, N., Fujimaki, M., Satoh, K., Aratsu, C., Nakashima, H., Kikuchi, H., Ochiai, K. and Sakagami, H. (2001): Diverse biological activities of healthy foods. *In Vivo*, **15**, 17-23.
- Krishnan, L., Guilbert, L.J., Rugell, A.S., Wegmann, T.G., Mosmann, T.R. and Belosevic, M. (1996): Pregnancy impairs resistance of C57BL/6 mice to *Leishmania major* infection and causes decreased antigen-specific IFN-gamma response and increased production of T helper 2 cytokines. *J. Immunol.*, **156**, 644-652.
- Kruger, C.L. and Mann, S.W. (2003): Safety evaluation of functional ingredients. *Food Chem. Toxicol.*, **41**, 793-805.
- MacDonald, R., Ishani, A., Rutks, I. and Wilt, T.J. (2000): A systematic review of Cernilton for the treatment of benign prostatic hyperplasia. *BJU Int.*, **85**, 836-841.
- Margalit, M., Shibolet, O., Klein, A., Elinav, E., Alper, R., Thalenfeld, B., Engelhardt, D., Rabbani, E. and Ilan, Y. (2005): Suppression of hepatocellular carcinoma by transplantation of *ex-vivo* immune-modulated NKT lymphocytes. *Int. J. Cancer*, **115**, 443-449.
- Oshiba, A., Hamelmann, E., Takeda, K., Bradley, K.L., Loader, J.E., Larsen, G.L. and Gelfand, E.W. (1996): Passive transfer of immediate hypersensitivity and airway hyperresponsiveness by allergic-specific immunoglobulin (Ig) E and IgG1 in mice. *J. Clin. Invest.*, **97**, 1398-1408.
- Prigent, P., Saoudi, A., Pannetier, C., Graber, P., Bonnefoy, J.Y., Duet, P. and Hirsch, F. (1995): Mercuric chloride, a chemical responsible for T helper cell (Th2)-mediated autoimmunity in Brown Norway rats, directly triggers T cells to produce interleukin-4. *J. Clin. Invest.*, **96**, 1484-1489.
- Sicherer, S.H. (2001): Clinical implications of cross-reactive food allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **108**, 881-890.
- Silagy, C.A. and Neil, .HA. (1994): A meta-analysis of the effect of garlic on blood pressure. *Hypertension*, **12**, 463-468.
- Snapper, C.M. and Paul, W.E. (1987): Interferon- γ and B cell stimulatory factor-1 reciprocally regulate Ig isotype production. *Science*, **236**, 944-947.
- Steiner, M., Khan, A.H., Holbert, D. and Lin, R.I. (1996): A double-blind crossover study in moderately hypercholesterolemic men that compared the effect of aged garlic and placebo administration on blood lipids. *Am. J. Clin. Nutr.*, **64**, 866-870.
- Tian, J., Zekzer, D., Hanssen, L., Lu, Y., Olcott, A. and Kaufman, D.L. (2001): Lipopolysaccharide-activated B cells down-regulate Th1 immunity and prevent autoimmune diabetes in nonobese diabetic mice. *J. Immunol.*, **167**, 1081-1089.
- Tripp, C.S. and Unanue, E.R. (1995): Macrophage production of IL-12 is a critical link between the innate and specific immune response to *Listeria*. *Res. Immunol.*, **146**, 515-519.
- van Poppel, G., Verhoeven, D.T., Verhagen, H. and Goldbohm, R.A. (1999): Brassica vegetables and cancer prevention. Epidemiology and mechanisms. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **472**, 159-168.
- Vukmanovic-Stejic, M., Vyas, B., Gorak-Stolinska, P., Noble, A. and Kemeny, D.M. (2000): Human Tc1 and Tc2/Tc0 CD8 T-cell clones display distinct cell surface and functional phenotypes. *Blood*, **95**, 231-240.
- Weisburger, J.H. (1999): Tea and health: the underlying mechanisms. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **220**, 271-275.
- Wilson, D.R., Nouri-Aria, K.T., Walker, S.M., Pajno, G.B., O'Brien, F., Jacobson, M.R., Mackay, I.S. and Durham, S.R. (2001): Grass pollen immunotherapy: Symptomatic improvement correlates with reductions in eosinophils and IL-5 mRNA expression in the nasal mucosa during the pollen season. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **107**, 971-976.
- Yasumoto, R., Kawanishi, H., Tsujino, T., Tsujita, M., Nishisaka, N., Horii, A. and Kishimoto, T. (1995): Clinical evaluation of long-term treatment using cernitin pollen extract in patients with benign prostatic hyperplasia. *Clin. Ther.*, **17**, 82-87.
- Zubillaga, M., Weill, R., Postaire, E., Goldman, C., Caro, R. and Boccio, J. (2001): Effect of probiotics and functional foods and their use in different diseases. *Nut. Res.*, **21**, 569-579.