

수수 추출물에 의한 마우스 비장세포 및 대식세포 활성의 항진 효과

류혜숙 · 김진* · 김현숙*

상지대학교 이공대학 식품영양학과, *숙명여자대학교 생활과학대학 식품영양학과

Enhancing Effect of *Sorghum bicolor* L. Moench (Sorghum, su-su) Extracts on Mouse Spleen and Macrophage Cell Activation

Hye-Sook Ryu, Jin Kim* and Hyun Sook Kim*

Department of Food and Nutrition, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

*Major in Food & Nutrition, College of Life Science, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea

Abstract

Sorghum bicolor L. Moench (Sorghum, Su-Su) is a major cereal food crop used in many parts of the world. It is used as a human food resource and folk medicines in Asia and Africa. The stem of sorghum has been used as a digestive aid and an anti-diarrheal agent. Sorghum hybrids contain high levels of diverse phenolic compounds that may provide health benefits. High levels of polyflavanols, anthocyanins, phenolic acids, and other antioxidant compounds have been reported in sorghums, which have also been shown to possess various biological activities such as anti-mutagenic, anti-carcinogenic, and HMG-CoA reductase inhibitory activities.

In an *in vitro* experiment, we examined mice splenocyte proliferation and production of three types of cytokine (IL-1 β , IL-6, TNF- α) by peritoneal macrophages cultured with ethanol and water extracts of *Sorghum bicolor* L. Moench. A single cell suspension of splenocytes was prepared and the cell proliferation of the splenocytes was examined by MTT assay. The splenocyte proliferation was increased when water extracts of *Sorghum bicolor* L. Moench were used as supplements in all concentrations investigated. The production of cytokine (IL-1 β , IL-6, TNF- α) by activated peritoneal macrophage was detected by ELISA using the cytokine kit. IL-1 β , IL-6, and TNF- α production by activated macrophages were increased by supplementation with *Sorghum bicolor* L. Moench water extracts. This study suggests that supplementation of with *Sorghum bicolor* L. Moench water extracts may enhance immune function by regulating the splenocyte proliferation and enhancing the cytokine production by activated macrophages *in vitro*.

Key words : splenocyte proliferation, sorghum, cytokine, IL-1 β , IL-6, TNF- α , immune

서론

최근 천연물에 의한 대체요법과 건강식품에 관한 관심이 많아지면서 식품으로부터 면역증강에 대한 연

구가 많이 시도되어지고 있다. 천연 식품 중 특정 생리활성물질의 효능에 많은 관심이 증대되고 있으며¹⁾ 특히, 자연계에 존재하는 천연물질로부터 항암, 항산화, 면역활성 등의 효과에 대한 연구가 활발히 이루어

[†] Corresponding author : Hyun Sook Kim, Major in Food & Nutrition, Sookmyung Women's University, Chungpha-dong 2-ka, Yongsan-ku, Seoul 140-742, Korea.

Tel : +82-2-710-9469, Fax : +82-2-707-0195, E-mail : rhs7420@hanmail.net

지고 있다²⁻⁴⁾. 면역 조절 작용은 생명 유지에 있어 가장 근본이 되는 과정으로 암을 비롯한 각종 질병의 발생과 예방이 생체 면역능과 밀접한 관계가 있으며 최근 천연 식물 자원을 대상으로 면역능을 강화하고 면역 세포를 활성화시킬 수 있는 다양한 연구가 진행되고 있다^{5,6)}. 수수의 면역능에 관한 연구는 미미한 수준이나, Choi⁷⁾ 등에 의한 발암 억제 효과 연구에서 Epstein-Barr Virus(EBV) 활성화 시험법을 적용하여 곡류 및 두류 에탄올 추출물의 발암 promotion 억제 효과를 측정 한 결과, 수수와 메밀에서 발암 promotion 억제 효과를 나타내었다. 또한 한방에서 수수는 체온 유지, 위장 보호, 소화 촉진 작용, 해독 작용, 식욕 개선 작용과 중기 치료 작용 등에 대한 연구 사례도 있다⁸⁾.

또 항 돌연변이 연구에서도 수수가 항 돌연변이 효능이 높음을 보여주었다⁹⁾. 이러한 연구 동향을 바탕으로 본 연구에서는 면역 증진능을 갖는 천연 식물 소재 탐색의 일환으로서 수수를 선정하여, 생체 외(*in vitro*) 실험으로 수수의 열수 추출물과 에탄올 추출물이 마우스 면역세포 활성에 미치는 영향에 대해 검색하고자 하였다. 추출물 첨가에 의한 마우스 비장세포 증식능과 활성 복강 대식세포에서 분비되는 대표적인 사이토카인(IL-1 β , IL-6, TNF- α) 생성량의 변화를 통해 수수의 면역 활성 증진 효과를 검증하여 수수의 면역 효과에 대한 가능성을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시료 추출 및 실험 동물

수수 분말 100 g을 실온에서 3차 증류수 2,000 mL와 에탄올 2,000 mL로 48시간 침지하여 이것을 회전식 진공 농축기를 이용하여 감압 농축한 후 약물 추출물 2 g과 에탄올 추출물 1 g의 추출물을 얻었다.

본 연구에 사용된 동물은 생후 6~7주령의 암컷 Balb/c 마우스로 (주)대한바이오텍으로부터 분양받아 실내온도 22±2 °C, 습도 40~60 %, 12시간 단위로 명암 주기(Light and dark cycle)가 조절되는 실험 동물실에서 고품사료와 물을 자유공급하면서 7~8일 정도 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2. 시약 및 배지

본 연구에 사용된 배지는 RPMI medium 1640의 GIBCO BRL(Grand Island NY, USA)의 제품을 사용하였고, fetal bovine serum(FBS), lipopolysaccharide(LPS), concanavalin A(Con A), thioglycollate, sodium bicarbonate, ammonium chloride, trima[®]base, trisma[®]hydro-

chloride, trypan blue solution(0.4%), streptomycin-penicilline, DMSO(dimethyl sulfide), 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide(MTT) 등의 시약은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였다.

3. 마우스 비장세포의 분리 및 배양

마우스 비장세포 분리는 Mishell와 Shigi¹⁰⁾의 방법에 의해 시행되었다. 경추 탈골법으로 희생시킨 마우스로부터 비장을 무균적으로 적출하여 RPMI 1640 배양액으로 씻은 후 멸균 유리병으로 가볍게 분쇄하여 세포를 유리시켰다. 분리된 세포 현탁액을 200 mesh stainless steel sieve(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)에 통과시켜 배양액으로 2번 세척하고, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 이것을 Tris-buffered ammonium chloride(NH₄Cl, pH 7.2)와 증류수에 현탁시켜 5분간 처리하여 적혈구를 제거하였다. RPMI medium 1640 용액에 분산시켜, trypan blue solution으로 염색한 후 hemocytometer를 이용하여 그 세포수를 측정하였다. 세포 농도 5.0×10⁶ cell/mL로 분산시킨 후 96-well plate에 분주, 배양하여 비장세포 증식능을 측정하였다.

4. 마우스 복강 대식세포의 분리 및 배양

실험 3일전 각 군별로 마우스 복강 내에 4% thio-glycollate(Sigma) 1.3 mL를 주사하여 복강 대식세포를 모이게 한 후, *in vitro* 실험 중 마우스 복강 대식세포의 사이토카인 생성량 측정 방법과 동일한 방법으로 마우스 복강 대식세포를 분리 및 배양하였다.

5. 비장세포 증식능 측정

각 수수 추출물은 10%의 불활성화된 FBS를 함유한 RPMI 1640 용액으로 50, 100, 500, 1,000, 2,500, 5,000, 10,000, 20,000 μ g/mL 농도가 되도록 조제하고, 비장 세포가 5×10⁶ cell/mL의 농도로 90 μ L씩 분주된 96-well plate에 10 μ L씩 가하여 최종농도가 5, 10, 50, 100, 250, 500, 1,000, 2,000 μ g/mL농도가 되도록 하였다. 양의 대조군으로 T 세포를 증식시키는 Con A, B 세포를 증식시키는 LPS를 첨가하여 37°C, 5% CO₂ incubator (Sanyo)에서 48시간 배양하여 MTT assay¹¹⁾를 실시하였다. 48시간이 되기 4시간 전에 각 well에 10 μ L의 MTT를 가한 후, 알루미늄 호일로 밀폐하여 빛을 차단한 상태에서 배양하여 formazan crystal 형성을 유도하였다. 배양이 끝난 후 plate의 상층액을 제거한 후 각 well당 150 μ L의 DMSO를 가하여 10분간 방치

한 후 ELISA reader를 이용하여 30초간 shaking하고 540 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.

Proliferation Index = Sample의 흡광도/Control의 흡광도

6. 사이토카인 생성량 측정

마우스 복강대식세포 분리는 Mishell¹⁰⁾ 등의 방법에 의해 실시되었다. 마우스의 복강 내의 4% thioglycollate(Sigma) 1.3 mL를 주사하여 3일간 복강 내에 대식세포가 모이게 방치하였다. 경추 탈골법으로 희생시킨 마우스 복부의 표피를 절개한 후, RPMI 1640으로 복강을 세척하여 대식세포를 수집하였다. 수집된 세척액을 4°C, 3,000 rpm에서 10분간 원심 침전시켜 cell pellet을 얻었다. 적혈구를 제거하기 위해 이것을 Tris-buffered ammonium chloride(0.87% NH₄Cl, pH 7.2)와 증류수에 현탁시켜 5분간 처리하였다. RPMI medium 1640 용액으로 원심 세척한 후 대식세포를 모아 불활성화된 10% FBS를 함유한 RPMI 1640 용액으로 1×10⁶ cell/mL의 세포 농도가 되도록 희석하여 48-well plate에 1,000 μL씩 분주하였다. 37°C, 5% CO₂ incubator (Sanyo)에서 2시간 동안 배양 후 배양 상층액을 분리하여 IL-1β, IL-6, TNF-α의 분비량을 ELISA cytokine kit(R&D system, USA)를 이용하여 측정하였다.

7. 통계분석

모든 연구 결과의 자료는 통계 프로그램인 SAS (Statistic Analysis System)를 이용하여 평균 및 표준편차를 계산하였으며, 군간의 비교에서 각각의 요인은 분산 분석(Analysis of Variance, ANOVA)을 사용하였고, Duncan's multiple range test로 p=0.05 수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 수수 물 추출물과 에탄올 추출물이 마우스 비장세포 증식능에 미치는 영향

비장은 T 세포, B 세포, 대식세포 등의 여러 가지 림프구가 밀집되어 있으며 생체 내 면역 방어를 담당하고 이차 면역 기관으로서 외부에서 유입된 항원에 대해 초기 면역 반응을 나타낸다. 특히 세포 면역 반응과 체액성 면역 반응에 관여하는 주요 기관¹²⁾으로 비장의 크기 및 세포의 수는 면역 반응과 밀접한 관련이 있다^{13,14)}. 체액성 면역 반응은 주로 세포 외에 있는 박테리아나 바이러스, 그리고 단백질과 같은 외부 물질에 대해 나타나며, 세포성 면역는 각종 기생충, 조직,

세포내 면역, 암세포 등에서 그 기능을 발휘한다. 이러한 이중 방어 체계는 B 세포와 T 세포의 두 종류의 lymphoid cell에 의해 수행되는데, B 세포는 항체를 생산하며 T 세포는 세포성 면역 반응에 직접 가담하고 있다¹⁵⁾.

수수 물 추출물과 에탄올 추출물을 5, 10, 50, 100, 250, 500, 1,000, 2,000 μg/mL 농도로 첨가하여 배양하였고 음의 대조군(negative control)으로는 수수 물 추출물과 에탄올 추출물 대신 배양액(10% FBS-RPMI 1640)을 첨가하였으며, 양의 대조군으로는 Con A와 LPS를 첨가하여 실험 방법의 내용대로 시료 처리 후 배양하였다. 비장세포 증식능은 배양액 10% FBS-RPMI 1640을 넣은 대조군의 흡광도를 1로 하여 비교하여 본 실험 결과는 Table 1에 나타내었다.

본 실험 결과 Con A와 LPS를 첨가하여 배양한 경우 비장세포 증식능이 각각 2.38±0.05, 1.93±0.05로 수수 물 추출물과 에탄올 추출물 첨가군에서 각각 1.02±0.03~1.27±0.04, 0.09±0.06~1.33±0.06에 비해 비장세포 증식능이 유의적인 증가를 보였다(p<0.05). 수수 물 추출물을 첨가하여 배양한 경우 5~100 μg/mL 농도에서 1.09±0.08~1.27±0.04로 비장세포 증식능이 향상되었다. 10 μg/mL과 100 μg/mL 농도로 첨가한 경우 각각 1.18±0.04, 1.27±0.04로 비장세포 증식능이 높게 나타났고 특히, 100 μg/mL에서는 가장 높은 비장세포 증식능을 보였다. 100 μg/mL 농도 이상에서는 농도가 증가할수록 비장세포 증식능이 감소하는 것으로 나타났다.

수수 에탄올 추출물은 5~100 μg/mL 농도로 첨가한 경우 비장세포 증식능은 1.08±0.08~1.33±0.06이었고 특히, 100 μg/mL 농도에서 1.33±0.06로 가장 높은 비장세포 증식능을 보였다. 반면 250 μg/mL 이상에서는 0.09±0.06~0.18±0.03으로 비장세포 증식능이 급격히 저하되는 것으로 나타나 비장세포 증식능이 억제되었다. 유사한 곡류군의 면역 활성 실험을 한 Park¹⁶⁾의 메밀 물 추출물 첨가 실험의 경우 농도 250, 500 μg/mL에서 각각 1.32±0.03, 1.59±0.03으로, 에탄올 추출물 첨가군의 경우 농도 10 μg/mL에서 1.13±0.03으로 유의적인 비장세포 증식 효과를 나타내어 각 시료에 따라 차이가 있음을 보여주고 있다.

In vitro 실험에서 수수 물 추출물과 에탄올 추출물 모두 미토젠(Con A, LPS)을 첨가하여 배양한 양의 대조군보다는 유의적으로 낮은 비장세포 증식능을 보였다. 특히 250 μg/mL 농도 이상에서의 비장세포 증식능이 100 μg/mL 농도 이하보다 적은 비장세포 증식능을 보여, 세포 증식 효과에는 미치지 못하지만 대조군에 비해서 비장세포 증식에 영향을 미치는 것으로

Table 1. Proliferation index of mice splenocyte cultured with *Sorghum bicolor* L. Moench water or ethanol extracts in various concentration and mitogens

Conc. ¹⁾ ($\mu\text{g/mL}$)	Proliferation Index ²⁾		Mitogen	
	Water extracts	Ethanol extracts	Con A	LPS
0	1.00 \pm 0.05 ^{e3)4)}	1.00 \pm 0.05 ^c		
5	1.09 \pm 0.08 ^{cd}	1.14 \pm 0.04 ^b		
10	1.18 \pm 0.04 ^b	1.08 \pm 0.07 ^{bc}		
50	1.14 \pm 0.04 ^{bc}	1.12 \pm 0.03 ^b		
100	1.27 \pm 0.04 ^a	1.33 \pm 0.06 ^a	2.38 \pm 0.05	1.93 \pm 0.05
250	1.15 \pm 0.03 ^{bc}	0.09 \pm 0.06 ^d		
500	1.02 \pm 0.03 ^{de}	0.12 \pm 0.02 ^d		
1,000	1.03 \pm 0.02 ^{de}	0.17 \pm 0.04 ^d		
2,000	1.04 \pm 0.04 ^{de}	0.18 \pm 0.03 ^d		

¹⁾ Concentration of *Sorghum bicolor* L. Moench water or ethanol extracts.

²⁾ Proliferation index = mean of O.D. in test wells / mean of O.D. in control wells.

³⁾ All values are mean \pm S.D.

⁴⁾ Values within a row(column) with different superscript letters are significantly different at $\alpha=0.05$ level by Duncan's multiple range test.

사료된다. 본 연구의 수수 물 추출물과 에탄올 추출물 첨가가 수수 물 추출물의 경우 모든 농도에서 대조군에 비해 비장세포 증식에 효과를 보였다. 에탄올 추출물의 경우는 5~100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서만 비장세포 증식에 효과를 보였고, 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도 이상에서는 비장세포 증식이 미미한 것으로 나타났다.

2. 수수 물 추출물과 에탄올 추출물이 마우스 복강 대식세포의 사이토카인 생성량에 미치는 영향

대식세포는 세균이나 이 물질을 탐식, 제거하는 과정에서 여러 가지 사이토카인을 분비하여 면역현상을 조절하며 염증반응, 조혈기구 등에도 관여하고 있다. LPS(lipopolysaccharide)와 IFN- γ (interferon- γ) 등에 의해 활성화된 대식세포는 암세포에 대한 세포 독성작용을 하게 되는데, 활성화된 대식세포에 의해 분비된 사이토카인(TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12), hydrogen peroxide(H_2O_2), nitric oxide(NO) 등이 암세포에 대한 세포 독성을 나타내는 물질로 제시되어 왔다¹⁷⁾. 그 중에서도 특히 IL-1, IL-6, TNF- α , IFN- γ 는 활성화된 대식세포로부터 생성되는 대표적인 사이토카인으로 알려져 있다¹⁸⁾. 그러나 초기 염증 반응에서 사이토카인은 세포간 신호전달을 수행함으로써 면역 반응에 중요한 역할을 담당한다. 본 연구에서는 효소 면역 측정법인

ELISA 마우스 사이토카인 kit를 이용하여 마우스 복강 대식세포의 배양액에서 사이토카인 IL-1 β , IL-6, TNF- α 생성량을 측정하였다. 농도 선정은 선행 연구의 비장 증식능의 고찰을 통해 10, 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도를 지표로 삼았으나, 비장 증식능과 사이토카인 생성능 농도는 반드시 일치하지 않는 제한점이 있다.

1) IL-1 β 생성량

활성화된 대식세포의 세포 배양액에 측정된 IL-1 β 함량을 ELISA 사이토카인 kit를 이용하여 측정된 결과는 Table 2에 나타내었다. 활성화된 대식세포에서 분비되는 대표적인 사이토카인인 IL-1 β 의 경우, 수수 추출물을 첨가하지 않은 대조군은 66.51 \pm 0.00 pg/mL로 IL-1 β 를 생성하였고, 미토젠인 LPS를 첨가한 경우에는 1,043.59 \pm 21.67 pg/mL IL-1 β 를 생성하여 대조군에 비해 유의적으로 IL-1 β 생성량이 상승된 것으로 나타났다($p<0.05$). 수수 물 추출물과 에탄올 추출물을 첨가한 두 농도 모두에서 대조군에 비해 유의적으로 높은 IL-1 β 생성량을 보였다($p<0.05$). 수수 물 추출물 10, 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도 첨가시 각각 339.37 \pm 46.75, 822.47 \pm 26.57 pg/mL로 대조군 66.51 \pm 0.00 pg/mL에 비해 유의적으로 높은 IL-1 β 를 생성하였고 특히, 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 822.47 \pm 26.57 pg/mL로 가장 높은 IL-1 β 를

Table 2. IL-1 β production by mice peritoneal macrophages cultured with water or ethanol extract of *Sorghum bicolor* L. Moench

Fraction	IL-1 β production(pg/mL)	
	10 μ g/mL ¹⁾	100 μ g/mL ²⁾
Water	339.37 \pm 46.75 ^{b3)}	822.47 \pm 26.57 ^b
Ethanol	146.21 \pm 10.09 ^c	658.34 \pm 58.08 ^b
Control	66.51 \pm 0.00 ^d	66.51 \pm 0.00 ^c
LPS	1,043.59 \pm 21.67 ^a	1,043.59 \pm 21.67 ^a

^{1,2)} Water or ethanol extract of *Sorghum bicolor* L. Moench

³⁾ All values are mean \pm S.D.

생성하였다($p < 0.05$). 수수 에탄올 추출물 10, 100 μ g/mL 농도 첨가시 146.21 \pm 10.09, 658.34 \pm 58.08 pg/mL로 대조군에 비해 유의적으로 높은 IL-1 β 를 생성하였다($p < 0.05$). 반면 미토젠인 LPS를 첨가하여 배양한 양의 대조군 1,043.59 \pm 21.67 pg/mL보다는 낮은 IL-1 β 생성량을 보였다. 본 실험 결과 모든 농도에서 에탄올 추출물보다는 물 추출물에서 높은 IL-1 β 생성량을 보였으며 물 추출물 100 μ g/mL 농도에서 가장 높은 IL-1 β 를 생성하였다.

2) IL-6 생성량

활성화된 대식세포의 세포 배양액에 측정된 IL-6 함량을 ELISA 사이토카인 kit를 이용하여 측정된 결과는 Table 3에 나타내었다. 대조군은 1.57 \pm 0.00 pg/mL로 IL-6를 생성하였고, 미토젠인 LPS를 첨가한 경우에는 63.11 \pm 0.40 pg/mL로 IL-6를 생성하여 대조군에 비해 IL-6 생성량이 유의적으로 상승된 것으로 나타났다($p < 0.05$). 수수 물 추출물 10, 100 μ g/mL 농도 첨가시 각각 65.02 \pm 1.49, 60.23 \pm 1.24 pg/mL로 대조군보다 유의적으로 높은 IL-6 생성량을 보였으며 특히, 10 μ g/mL 농도로 첨가한 경우에는 미토젠인 LPS보다 유의적으로 높은 IL-6 생성량을 보였다($p < 0.05$). Park¹⁶⁾의 연구에서 메밀 추출물 실험에서 대조군은 67.82 \pm 1.33 pg/mL의 생성량을 보였다. 물 추출물의 경우 100 μ g/mL에서 757.86 \pm 8.23 pg/mL로 유의적으로 높은 IL-6 생성량을 나타내었다($p < 0.05$). 백자약의 10 μ g/mL 물 분획물 첨가시에도 유의적으로 많은 양의 IL-6를 생성한 보고¹⁹⁾와 본 결과는 유사한 경향을 보였다. 수수 에탄올 추출물 10, 100 μ g/mL 농도 첨가시 각각 26.17 \pm 0.36, 2.11 \pm 0.06 pg/mL로 대조군(1.57 \pm 0.00 pg/mL)보다 유의적으로

Table 3. IL-6 production by mice peritoneal macrophages cultured with water or ethanol extract of *Sorghum bicolor* L. Moench

Fraction	IL-6 production(pg/mL)	
	10 μ g/mL ¹⁾	100 μ g/mL ²⁾
Water	65.02 \pm 1.49 ^{a3)}	60.23 \pm 1.24 ^b
Ethanol	26.17 \pm 0.36 ^c	2.11 \pm 0.06 ^c
Control	1.57 \pm 0.00 ^d	1.57 \pm 0.00 ^c
LPS	63.11 \pm 0.40 ^b	63.11 \pm 0.40 ^a

^{1,2)} Water or ethanol extract of *Sorghum bicolor* L. Moench

³⁾ All values are mean \pm S.D.

높은 IL-6 생성량을 보인($p < 0.05$)반면, 미토젠인 LPS를 첨가했을 때보다는 낮은 IL-6 생성량을 보였다.

본 실험결과 물 추출물 10, 100 μ g/mL 농도에서 대조군보다 높은 IL-6 생성량을 보였고 특히, 10 μ g/mL 농도는 미토젠인 LPS로 배양한 양의 대조군보다 높은 IL-6 생성량을 보였다. 또한 모든 농도에서 에탄올 추출물보다 물 추출물 첨가시 높은 IL-6 생성량을 보였다. 본 연구에서 수수 물 추출물이 B 림프구를 분화시켜 항체 생성을 유도하는 IL-6의 생성량을 증가시켰으므로 수수 물 추출물이 B 세포를 활성화시키거나 항체 생성을 유도시킬 것으로 사료된다.

3) TNF- α 생성량

활성화된 대식세포의 세포 배양액에 측정된 TNF- α 함량을 ELISA 사이토카인 kit를 이용하여 측정된 결과는 Table 4에 나타내었다. 대조군은 381.09 \pm 0.00 pg/mL의 TNF- α 를 생성하였고, 미토젠인 LPS(15 μ g/mL)

Table 4. TNF- α production by mice peritoneal macrophages cultured with water or ethanol extract of *Sorghum bicolor* L. Moench

Fraction	TNF- α production(pg/mL)	
	10 μ g/mL ¹⁾	100 μ g/mL ²⁾
Water	5,178.17 \pm 57.91 ^{a3)}	4,485.39 \pm 60.59 ^a
Ethanol	2,829.56 \pm 0.00 ^c	2,642.26 \pm 28.96 ^c
Control	381.09 \pm 0.00 ^d	381.09 \pm 0.00 ^d
LPS	4,333.04 \pm 16.33 ^b	4,333.04 \pm 16.33 ^b

^{1,2)} Water or ethanol extract of *Sorghum bicolor* L. Moench

³⁾ All values are mean \pm S.D.

를 첨가한 경우에는 $4,333.04 \pm 16.33$ pg/mL TNF- α 를 생성하여 대조군에 비해 유의적으로 높은 TNF- α 를 생성하였다($p < 0.05$). 수수 물 추출물 10, 100 μ g/mL 농도를 첨가한 경우 각각 $5,178.17 \pm 57.91$, $4,485.39 \pm 60.59$ pg/mL로 대조군보다 유의적으로 높은 TNF- α 생성량을 보였다($p < 0.05$). 또한 수수 물 추출물 10, 100 μ g/mL 농도 첨가 시 미토젠인 LPS(15 μ g/mL)에 의한 TNF- α 생성량보다 유의적으로 높은 TNF- α 생성량을 보였다($p < 0.05$).

수수 에탄올 추출물 10, 100 μ g/mL 농도를 첨가한 경우에는 각각 $2,829.56 \pm 0.00$, $2,642.26 \pm 28.96$ pg/mL로 대조군(381.09 ± 0.00 pg/mL)보다 유의적으로 높은 TNF- α 생성량을 보였다($p < 0.05$). 반면 미토젠인 LPS 첨가했을 때보다는 낮은 TNF- α 생성량을 보였다.

매일 물 추출물 100 μ g/mL 농도 첨가군에서 양의 대조군보다 높은 TNF- α 생성량을 보였다¹⁶⁾. 본 실험 결과 수수 물과 에탄올 추출물은 모든 농도에서 대조군보다 유의적으로 높은 TNF- α 생성량을 보였으며 특히, 물 추출물의 모든 농도에서는 미토젠인 LPS로 배양한 양의 대조군보다 유의적으로 높은 TNF- α 생성량을 보였다($p < 0.05$). 또한 모든 농도군에서 수수 에탄올 추출물 첨가시보다 수수 물 추출물 첨가시 유의적으로 높은 TNF- α 생성량을 보였다($p < 0.05$).

이상의 본 연구 결과를 종합해 보면, 수수의 비장증식능 효과에서 에탄올 추출물은 100 μ g/mL 농도 이상에서는 면역세포에 영향을 끼칠 가능성이 낮음을 보여주었고, 물 추출물의 경우 250 μ g/mL 농도 이상에서 효과가 미미한 것으로 나타나 수수는 고농도로 먹는 것보다 낮은 농도로 먹을 때 면역능에 더 효과가 높을 가능성을 제시하는 것으로 사료된다. 또 사이토카인 실험에서 수수 추출물을 첨가한 마우스 복강대식세포의 배양액에 측정된 IL-1 β 의 경우, 물 추출물 100 μ g/mL 농도에서 가장 높은 생성량을 보여 주었고, IL-6의 경우, 물 추출물 10, 100 μ g/mL 두 농도 모두에서 LPS 수준의 생성량을 보여 주었다. TNF- α 의 생성량도 물 추출물 10, 100 μ g/mL 두 농도 모두에서 미토젠인 LPS 수준의 생성량을 보여 주어, 이는 수수 추출물이 외부의 항원에 민감하게 대응하여 면역세포를 활발하게 분비할 가능성이 있는 것으로 사료된다. 특히 에탄올 추출물보다는 물 추출물에서 사이토카인 생성량이 높았고 100 μ g/mL 농도보다는 10 μ g/mL 농도에서 IL-6, TNF- α 생성량이 높게 나타났다. 따라서 100 μ g/mL 농도보다는 10 μ g/mL 농도, 수수의 경우 비교적 저 농도의 물 추출물에서 마우스 복강대식세포 활성화를 더 높일 가능성과 대식세포 활성화에 따른 사이토카인의 생성 가능성을 높일 것으로 보이며,

수수 추출물 내에 이러한 면역 활성 조절 물질 존재할 가능성이 있을 것으로 사료된다.

요약 및 결론

*In vitro*를 통한 수수 추출물의 면역 활성을 증명하기 위하여 마우스의 비장세포 증식능과 사이토카인을 측정하였다. 비장세포 증식능은 250~2,000 μ g/mL 농도보다는 5~100 μ g/mL 농도에서 더 높은 효과를 나타냈으며 이와 같은 결과는 물 추출물보다는 에탄올 추출물에서 뚜렷하게 나타났다. 비장세포 증식능을 바탕으로 복강 대식세포에서 생성되는 IL-1 β , IL-6, TNF- α 사이토카인 생성량을 측정하였다. 그 결과 LPS 처리시 수수 물 추출물과 에탄올 추출물 10, 100 μ g/mL 농도에서 생성된 IL-1 β , IL-6, TNF- α 사이토카인은 대조군보다 높은 생성량을 보였다. 또한 에탄올 추출물보다는 물 추출물에서 높은 생성량을 보였고 IL-6와 TNF- α 사이토카인은 100 μ g/mL의 농도보다는 10 μ g/mL의 농도에서 높은 생성량을 나타내었다.

이상의 결과에 의하면, 수수 물 추출물 및 에탄올 추출물은 비장세포 증식능과 사이토카인 생성량을 증가시킴으로서 면역 기관의 주요 기능을 증진시키는 것으로 사료된다. 따라서 이와 같은 마우스 실험을 근거로 임상실험을 통한 기능성 식품의 개발과 면역식단 개발의 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Arai, S. Studies on function foods in Japan-state of art. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 60:9-15. 1996
2. Wagner, H. Search for plant derived natural products with immunostimulatory activity. *Pure & Appl. Chem.* 66(7): 1271. 1990
3. Ryu, HS and Kim, HS. Effects of job's tear extracts on mouse immune cell activation. *J. Korean Diet. Assoc.* 11(1):44-50. 2005
4. Wagner, H. Search for plant derived natural products with immuno-stimulatory activity. *Pure & Appl. Chem.* 66(7):1271-1222. 1990
5. Pyo, MY and Hyun, SM. Effects of *Phellinus linteus* extracts on the humoral immune response in normal and cyclophosphamide treated mice. *The Journal of Applied Pharmacology* 9:194-200. 2001
6. Park, JS and Chyun, JH. Effects of low fat diet and

- saturated fat supplementation on the Immune status of Balb/c mouse. *Korean J Nutrition* 26(5): 578-585. 1993
7. Choi, YH, Kang, MY and Nam, SH. Inhibitory effect of various cereal and bean extracts on carcinogenicity *in vitro*. *Korean J. food sci. Technol.* 30(4):964-969. 1998
 8. Nanjing University of TCM(edited), Chinese Herb Encyclopedia (Zhonghua Bencao). Shanghai Science & Technology Press, Shanghai. 8: 424-425. 1999
 9. Kwak, CS, Lim, SJ, Kim, SA, Park, SC and Lee, MS. Antioxidative and antimutagenic effects of Korean buckwheat, sorghum, millet and job's tears. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 33(6): 921-929. 2004
 10. Mishell, BB and Shigi, SM. 1st ed. pp4-5. Selected methods in cellular immunology. San Francisco. WH Freeman and Co. 1980
 11. Toshiaki, M, Takahiko, O, Eri, M, and Gisho, H. Inhibitory effect of *Perilla frutescens* and its phenolic constituents on cultured murine mesangial cell proliferation. *Planta Medica.* 64(6) : 541-545. 1998
 12. Roitt, IM, Brostoff, J and Male, DK. Immunology 2nd ed., Churchill Livingstone, London, 1.3-3.10. 1989
 13. James, GL. Methods in immunotoxicology. vol. 2:15-26 Wiley-Liss, Inc. 1995
 14. Toshmi, Yasunaga, Hitoshi, Kato, Kazuhisa, Ohigaki, Takashi Inamoto, and Yorinori, Hikasa. Effect of vitamin E as immunopotentiation agent for mice at optimal dosage and its toxicity at high dosage, *The American Institute of Nutrition* 24, 1075-1084. 1982
 15. Weiss, L. Cell and tissue biology, 6th ed. Urban & Schwarzenbeg, Baltimore, USA : 481-538. 1988
 16. Han, AP. Enhancing effect of *Ixeris sonchifolia* Hance *Oenanthe javanica*, and *Fagopyrum eschuentum moench* on Mouse Immune Cell Activation. Master's thesis, Sookmyung Women's University. 2003
 17. Munoz, C., Schlesinger, L and Cavailon, JM. Interaction between cytokine, nutrition and infection. *Nutr. Res.* 15: 1815-1844. 1995
 18. Hibbs, JB and Nathan, CF. Role of nitric oxide synthesis in macrophage antimicrobial activity. *Curr Opin Immunol.* 3: 65-70. 1991
 19. Kim, J. Enhancing effect of *Paeonia japonica*, *Houttuynia cordata*, and *Aster scaber* extracts on the immunoreactivity *in vivo* in Mice. Ph.D. Dissertation, Sookmyung Women's University. 2003
-
- (2006년 4월 3일 접수; 2006년 6월 1일 채택)