

제주 손바닥 선인장의 초음파 추출을 통한 면역활성 증진

권민철* · 한재건* · 정향숙* · Syed Abdul Qadir* · 최영범** · 고정림** · 임태일*** · 이현용****†

*강원대학교 BT특성화학부(대학), **정우식품, ***태림상사(주), ****강원대학교 생명공학연구소

Enhancement of Immune Activities of *Opuntia ficus-indica* L. Miller by Ultrasonification Extraction Process

Min Chul Kwon*, Jae Gun Han*, Hyang Suk Jeong*, Syed Abdul Qadir*, Young Beom Choi**, Jung Rim Ko**, Tae Il Lim***, and Hyeon Young Lee****†

*College of Bioscience & Biotechnology, Kangwon National Univ., Chuncheon 200-701, Korea.

**Jeong Woo Foods Co., Jeju Special Self-Governing Province 690-804, Korea.

***Taerim Trading Co. Ltd. Jeju Special Self-Governing Province 697-935, Korea.

****Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Kangwon National Univ., Chuncheon 200-701, Korea.

ABSTRACT : Immune activities of *Opuntia ficus indica* L. Miller were investigated through aqueous extracts associated with ultrasonification process at 60 °C, and showed the highest promotion of human B and T cell growth, up to 52% and 41%, respectively, compared to the control. The secretion of TNF- α and IL-6 was also enhanced by the addition (0.5 mg/ml) of the extracts, up to 48%. NK cell activation was significantly improved up to 1.3 times higher than the case of adding other extracts. It was also found that extracts from *O. ficus indica* could yield higher nitric oxide production from macrophage than Lipopolysaccharides (LPS). It can be concluded that, in general, the extracts treated with ultrasonification has higher immune activities than others, possibly by higher yielding immuno-modulatory than conventional extraction process. The optimum condition for the extraction of *O. ficus-indica* is water extraction associated with ultrasonification.

Key Words : *Opuntia ficus indica* L. Miller, Immune Activity, Ultrasonification

서 론

손바닥 선인장 (*Opuntia ficus-indica* L. Miller)은 선인장과 (*Cactaceae*) 선인장속 (*Opuntia*)에 속하는 다년초로서 열대지방이 원산지이고 우리나라에서는 제주도에서 재배되어 식용, 약용 및 관상용으로 이용되고 있다. 손바닥 선인장의 열매와 줄기는 예로부터 당뇨, 변비, 고혈압, 식욕증진 및 기관지 천식에 효능이 있어 사용되어 왔고, 또한 부종 및 화상 치료에도 효과가 있어 민간약재로 전해져 내려오고 있다 (Ahn, 1998; Kim, 1996; Hotta, 1989). 그러나 손바닥 선인장에 대한 국내의 연구로서는 쥐의 스트레스성 위궤양에 대한 선인장의 항궤양작용에 관한 연구 (Lee, 1997), 손바닥 선인장의 성분 특성연구 (Lee *et al.*, 1997), 선인장 붉은 열매에서 추출한 베타닌 색소의 안정성 (Chung *et al.*, 1996), 선인장 열매 적색색소의 열안정성에 미치는 항산화제의 효과에 대한 연구 (Kim *et al.*, 1995) 등이 있을 뿐 많은 연구가 되어 있지 않

다. 선인장을 류마티스관절염의 민간요법 치료에 활용한 정확한 원인이 규명되지는 않았으나 자기면역성 질환의 일종으로 추정하는 연구가 보고 되기도 하였다 (Gay *et al.*, 1993). 병변이 나타나는 관절에는 자기면역성 림프구와 대식세포 (macrophage)가 출현하며 동시에 이들 세포로부터 분비된 종양괴사인자를 비롯한 염증유도성 cytokine이 증가된다. 특히 종양괴사인자는 정상적인 생체에서는 종양세포의 파괴 등 이로운 작용을 하지만 염증이 시작된 이후에는 정상조직도 손상시킬 수 있는 것으로 알려지고 있다 (Cunnane *et al.*, 1998; Leistad *et al.*, 1998). 자기면역성 뇌척수염은 사람의 다발성 경화증의 동물모델로 활용될 뿐만 아니라 류마티스 등과 같은 자기면역성 질병에 대한 동물모델의 원형 (prototype)으로 알려져 있다. 특히 류마티스관절염과 자기면역성 뇌척수염모델에서는 종양괴사인자가 염증의 시작에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다 (Leistad *et al.*, 1998; Tanuma *et al.*, 1997)

현재 제주도를 중심으로 손바닥 선인장의 재배가 증가하고

†Corresponding author: (Phone) +82-33-250-6455 (E-mail) hyeonl@kangwon.ac.kr

Received April 3, 2007 / Accepted September 21, 2007

있으며, 세계적으로 선인장을 통한 기능성 가공식품의 개발 및 시장규모도 계속적으로 증가하고 있어 향후 소비가 증가될 것으로 전망된다. 하지만 일본 및 남미 등에서 다양한 선인장 가공식품이 시판되는 것과 달리 국내에서는 제주지역을 중심으로 선인장 청차 등의 단순가공식품만이 생산되고 있어 그 이용은 걸음마 단계라 할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 손바닥 선인장의 응용범위를 다양화하기 위한 일환으로 활성이 기대되는 손바닥 선인장을 용매 및 온도, 초음파병행 조건을 달리하여 추출하고, 면역 활성을 탐색함으로써 손바닥 선인장의 기능성 제재로의 가능성 및 최적 추출조건을 검토하고자 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 추출방법

본 실험에 사용된 손바닥 선인장 (*Opuntia ficus-indica* L. Miller)은 2006년 11월 수확된 것을 제주도 제주시에 위치한 정우식품에서 지원받아 사용하였다. 손바닥 선인장은 수확 후 4°C에서 냉장보관 하던 생과를 이용하였으며, 시료는 각각 10 배(v/w)의 100°C 증류수와 60°C ethanol을 사용하여 24시간동안 추출하였고, 다시 초음파 추출기를 통하여 각각의 추출온도인 100°C와 60°C에서 60 kHz의 초음파로 30분간 초음파 추출을 병행한 것을 이용하였다. 추출 후 추출물의 여과는 Whatman사의 20~25 μ m 여과지를 이용하여 감압여과 하였으며, 감압 여과 후 농축과 동결건조 단계를 거쳐 분말을 얻어 실험에 사용하였다.

2. 세포주 및 세포 생육 배지

면역세포 생육 증진 효과는 인간 면역 세포인 T cell (Jurkat, ATTC, USA)과 B cell (Raji, ATTC, USA)을 이용하여 검증하였다. 실험에 사용된 면역세포는 RPMI 1640배지에 10% heating-inactivated FBS를 첨가시켜 배양하였고, NK cell은 alpha minimum essential medium (α -MEM) 배지에 2 mM L-glutamine, 0.2 mM myoinositol, 20 mM folic acid, 10^{-4} M 2-mercaptoethanol, 12.5% fetal bovine serum (FBS) 과 12.5% horse serum (Myelocult)을 첨가시켜 배양하였다.

세포배양에 필요한 배지로 RPMI 1640과 α -MEM은 Gibco (USA)사로부터 구입하였고, HEPES buffer는 Sigma (USA)사에서 구입하여 사용하였다. 혈청은 Gibco사의 FBS와 horse serum을 이용하였고 gentamycin sulfate, trypsin-EDTA와 세포염색을 위한 sulforhodamine B (SRB)는 Sigma사로부터 구입하여 실험에 사용하였다.

3. 면역세포 생육 증진 효과

면역기능 증강 효과는 인간 면역 세포인 T cell과 B cell을

이용하여 검증하였다. 세포의 생육은 10% FBS를 함유하는 RPMI 1640 배지를 이용하여 5% CO₂, 37°C에서 배양하였으며, 면역기능 증강 효과는 24 well plate에 세포를 1.0×10^4 cells/ml의 농도로 조절한 후 시료를 투여하여 8일 동안 배양하면서 매일 각 well의 세포수를 혈구계수기로 측정하여 생육도를 측정하는 방법을 사용하였다 (Kim *et al.*, 2005).

4. Cytokine 분비량 측정

Cytokine은 IL-6와 TNF- α 의 정량을 Chemicon (USA)사의 IL-6와 TNF- α 정량 kit를 사용하여 측정하였다. 세포의 농도를 $1.0 \sim 2.0 \times 10^4$ cells/ml의 농도로 조절한 후 24 well plate에 900 μ l 씩 첨가하여 24시간 동안 배양 (37°C, 5% CO₂)시킨 후 시료를 최종농도 0.5 mg/ml로 100 μ l 씩 첨가하여 다시 배양하였다. 원심분리기를 이용하여 배양액의 상층액을 취한 다음 microplate reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하여 얻어진 O.D값을 표준물질을 이용해 작성한 표준곡선과 비교하여 cytokine의 양을 측정하였다 (Han *et al.*, 1998).

5. 대식세포에서의 nitric oxide 생성능 측정

사용된 세포주는 마우스 유래 J774.1 대식세포이며, 세포는 10% heat-inactivated bovine serum과 RPMI 1640 배지를 이용하여 24 well plate에 $4 \sim 5 \times 10^4$ cells/well의 농도로 넣은 다음, 시료를 첨가하거나 첨가하지 않고 5% CO₂ incubator안에서 37°C에서 48시간동안 배양하여 실험에 사용하였다. 대식세포에서 발생하는 nitric oxide의 양은 활성화된 대식세포 배양액에 축적되어 있는 nitrite의 양을 microplate assay를 이용하여 정량함으로써 측정하였다. 먼저 시료를 처리하고 48시간 동안 세포를 배양하고 상등액 50 μ l를 취하여 동일부피의 Griess시약 (1% sulfanilamide/0.1% N-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride/2.5% H₃PO₄)을 첨가하고 실온에서 10분간 반응시킨 후 ELISA reader (Molecular Devices, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. Nitrite의 표준물질로는 sodium nitrite를 사용하였으며 농도는 32 μ M에서부터 0.25 μ M까지 RPMI 1640 배지로 2배씩 희석하여 얻은 표준곡선과 비교하여 계산하였다. NO-생성능의 양성대조구 물질로는 LPS를 사용하였다 (Ding *et al.*, 1998).

6. Natural Killer cell (NK cell)의 면역증진 효과

ATCC로부터 분양 받은 NK-92MI cell을 α -MEM배지에 2 mM L-glutamine, 0.2 mM myoinositol, 20 mM folic acid, 10^{-4} M 2-mercaptoethanol, 12.5% FBS와 12.5% horse serum에 2×10^7 cells/ml의 농도로 희석시켜 이용하였다.

인간 T세포와 B세포를 T-25 Flask에 배양하면서 sample을 투여한 후 증식정도를 관찰하면서 3~4번의 계대배양 후 세포를 원심분리하여 상층액을 취하였다. NK-92MI cell을 24

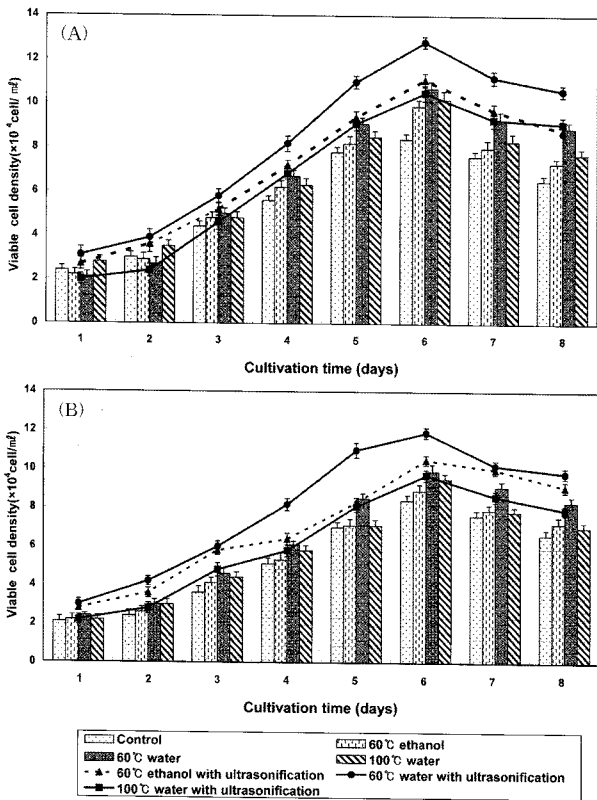


Fig. 1. The growth of human (A) B cell "Raji" and (B) T cell "Jurkat" in adding the extracts under several extract conditions and fermented extracts from *O. ficus-indica* L. Miller. Significant differences were compared with control at $p < 0.05$ by student t-test.

well plate에 $4\sim 5 \times 10^4$ cells/ml 로 $900 \mu\text{l}$ 씩 분주하고 24시간 후 T세포와 B세포의 상층액을 각 plate에 $100 \mu\text{l}$ 씩 투여하였으며 배양 48시간 후 6일 동안 NK-92MI cell의 활성도를 cell counter를 이용하여 생세포수 측정을 통해 확인하였다 (Yueran *et al.*, 2003; Cecilia, 2002).

결과 및 고찰

1. 면역세포 생육 증진 효과

인간의 면역체계에서 중요한 역할을 하는 면역세포인 B cell과 T cell에 대한 손바닥선인장의 면역증진 효과를 확인하기 위하여 면역세포의 생육 촉진 효과를 생육도 측정을 통해 확인하였다. Fig. 1의 (A)와 (B)는 각각 손바닥 선인장 추출물의 첨가를 통한 B cell과 T cell의 생육도를 나타낸 것이다. B cell은 시료첨가 시점을 기준으로 하여 6일째 최고 생육도를 나타내는 생육곡선을 나타내었다. 시료를 첨가한 모든 조건에서 대조군과 비교하여 증가된 생육도를 확인할 수 있었다. 대부분의 측정에서 초음파를 병행한 추출물이 병행하지 않은 추출물에 비해 5~50% 높은 활성을 나타내었고, 그중 가장 높은 활성을 나타낸

것은 초음파를 병행한 60°C 물 추출물로 6일째 12.8×10^4 cells/ml 를 나타냄으로서 시료를 첨가하지 않은 대조군의 8.4×10^4 cells/ml 에 비하여 약 52%의 이상의 B cell 생육 증진을 나타내며 모든 측정기간에서 가장 좋은 활성을 나타냈다.

T cell의 생육도는 B cell의 생육도와 유사한 결과를 나타내었다. 최대 생육도를 나타내는 6일째 60°C 초음파병행 추출물의 생육도는 11.9×10^4 cells/ml 로 대조군의 8.4×10^4 cells/ml 과 비교하여 T cell의 생육을 약 41% 증가시키는 것으로 나타났다. 또 B cell의 생육과 마찬가지로 초음파를 병행한 추출물이 병행하지 않은 추출물에 비해 높은 활성을 나타내었다.

이는 면역 활성을 나타내는 것으로 알려진 팔손이 근피와 수피의 추출물을 통한 면역 활성 연구 (Kim *et al.*, 2005)의 40~70% 생육 증진과 근사한 수치로 B cell과 T cell의 생육도 측정을 통해 손바닥 선인장에는 면역세포의 생육을 증진시키는 성분이 함유되어 있으며, 초음파병행 추출 공정을 통해 활성을 증진시킬 수 있을 것으로 사료된다. 이는 초음파공정을 통한 공동효과에 따른 활성 물질의 용출량 증가에 기인하는 것으로 생각된다. 또한 B cell과 T cell을 통한 모두의 결과에서 용매별로는 초음파를 병행한 60°C 에탄올 추출물이 대조군에 비해 5~35%의 활성 증진을 나타내며 초음파를 병행한 60°C 물 추출물 다음으로 좋은 활성을 보였으나 초음파를 병행하지 않은 60°C 에탄올 추출물은 대조군 및 100°C 물 추출물과 비슷한 활성을 나타내며 다른 추출물에 비해 낮은 활성을 나타내었다. 온도별로는 초음파병행 조건과 상관없이 병행한 추출물과 병행하지 않은 추출물 모두에서 100°C 물 추출물에 비해 60°C 물 추출물의 활성이 높게 나타남에 따라 손바닥 선인장의 면역 활성 증진을 나타내는 성분이 100°C 이상의 고온에서 활성의 감소를 나타내는 것으로 사료된다.

2. Cytokine 분비 증진 효과

Table 1은 인간면역 세포의 생육 증강도를 뒷받침할 수 있는 자료로서 면역 세포들이 분비하는 cytokine (IL-6, TNF- α)의 분비량을 B, T cell에서 측정한 결과를 나타낸 것이다. 각 시료에 따른 cytokine 분비량은 면역세포 생육도와 유의적인 값을 나타내었다. 각 시료에 대한 세포 당 IL-6와 TNF- α 의 분비량을 살펴보면, 초음파를 병행한 60°C 물 추출물의 경우 6일째 T cell에서 각각 3.14×10^{-4} pg/cell, 3.67×10^{-4} pg/cell 로 가장 많은 분비량을 나타내었다. 마찬가지로 B cell에서도 2.61×10^{-4} pg/cell, 2.78×10^{-4} pg/cell을 나타내며 다른 시료와 비교하여 많은 cytokine 분비량을 나타내었다. 또한 초음파를 병행하여 추출한 추출물들이 면역세포 생육증진 활성 측정에서와 마찬가지로 병행하지 않은 추출물들에 비해 많은 cytokine 분비를 나타내었다. 이는 손바닥 선인장과 유사한 해당화의 뿌리 추출물을 통한 연구 (Lee *et al.*, 2003)의 면역세포 생육증진 효과와 유사한 수치로 손바닥 선인장 추출물 첨

Table 1. Comparison of IL-6, TNF- α secretion through cell growth in adding the extracts from *O. ficus-indica* L. Miller under several extract conditions¹⁾

Sample	Cultivation time (DAY)	Specific secretion from B cell (10 ⁻⁴ pg/cell)		Specific secretion from T cell (10 ⁻⁴ pg/cell)	
		IL-6	TNF- α	IL-6	TNF- α
Control (no addition)	1	0.61±0.05	0.71±0.08	0.74±0.07	0.25±0.06
	2	0.76±0.08	0.65±0.05	1.3±0.15	0.52±0.07
	3	1.05±0.06	0.99±0.11	1.61±0.08	1.2±0.05
	4	1.36±0.08	1.41±0.10	1.82±0.13	1.14±0.10
	5	1.26±0.10	1.43±0.09	1.85±0.21	1.75±0.08
	6	1.24±0.09	1.38±0.08	1.7±0.13	1.73±0.12
60°C EtOH extracts	1	0.74±0.06	1.01±0.08	1.08±0.05	1.15±0.10
	2	1.17±0.09	1.23±0.07	1.2±0.13	1.43±0.08
	3	1.16±0.12	1.22±0.16	1.8±0.15	2.53±0.16
	4	1.48±0.09	1.57±0.13	2.26±0.11	3.01±0.13
	5	2.67±0.10	3.44±0.08	3.48±0.24	4.61±0.21
	6	2.54±0.11	3.40±0.09	3.44±0.15	4.56±0.18
60°C Water extracts	1	0.82±0.08	0.94±0.12	1.04±0.06	0.78±0.05
	2	1.00±0.06	0.93±0.05	1.57±0.15	1.38±0.09
	3	1.29±0.13	1.63±0.15	1.86±0.09	1.98±0.12
	4	1.50±0.09	1.85±0.12	2.09±0.07	2.62±0.10
	5	1.89±0.08	1.99±0.11	2.28±0.15	2.76±0.09
	6	1.90±0.10	2.00±0.12	2.33±0.11	2.66±0.15
100°C Water extracts	1	0.84±0.08	0.77±0.08	1.02±0.10	0.78±0.09
	2	0.90±0.12	0.87±0.09	1.67±0.16	1.38±0.11
	3	1.56±0.09	1.44±0.05	2.38±0.12	1.98±0.13
	4	1.70±0.11	2.07±0.13	2.47±0.08	2.62±0.23
	5	1.68±0.10	2.03±0.08	2.64±0.11	2.76±0.12
	6	1.58±0.15	2.00±0.06	2.53±0.15	2.59±0.08
60°C EtOH extracts †	1	0.78±0.09	0.95±0.11	1.04±0.12	0.92±0.06
	2	0.93±0.07	1.10±0.06	1.57±0.07	1.51±0.12
	3	1.18±0.08	1.37±0.09	1.86±0.16	2.11±0.09
	4	1.36±0.08	1.77±0.20	2.09±0.11	2.38±0.08
	5	1.75±0.14	1.82±0.15	2.29±0.22	2.53±0.12
	6	1.70±0.11	1.67±0.11	2.27±0.20	2.5±0.18
60°C Water extracts †	1	0.69±0.05	0.69±0.06	1.07±0.11	0.8±0.07
	2	1.11±0.08	1.03±0.10	1.82±0.08	1.36±0.09
	3	1.69±0.09	1.93±0.09	2.77±0.12	2.2±0.12
	4	2.31±0.11	2.40±0.11	3.22±0.13	2.62±0.11
	5	2.64±0.09	2.90±0.16	3.42±0.12	3.76±0.10
	6	2.61±0.08	2.78±0.14	3.14±0.19	3.67±0.13
100°C Water extracts †	1	0.79±0.09	0.88±0.05	1.02±0.09	0.85±0.10
	2	0.97±0.10	0.81±0.09	1.67±0.04	0.74±0.08
	3	1.77±0.11	1.21±0.12	2.38±0.12	1.55±0.13
	4	1.85±0.12	1.70±0.09	2.47±0.13	1.48±0.12
	5	1.55±0.08	1.72±0.11	2.64±0.15	2.83±0.18
	6	1.56±0.09	1.59±0.08	2.52±0.10	2.72±0.11

† : with ultrasonification (60 kHz)

¹⁾ Data values are expressed as mean±SD of triplicate determinations. The data showed significant difference in the same row at the level of p < 0.05 by student t-test.

가를 통한 면역세포의 생육 증진 및 cytokine 분비량 증가를 통하여 손바닥 선인장이 면역 활성 증진과 관련하여 활용 가

능성이 있으며 초음파병행 추출 공정을 통해 면역 활성을 증진시킬 수 있음을 확인하였다.

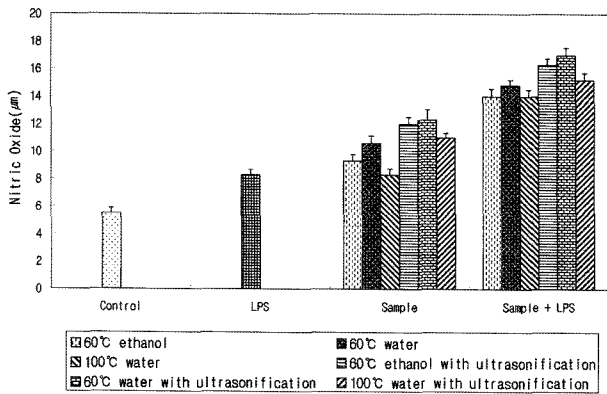


Fig. 2. Nitric oxide production from J774.1 cell lines in adding the extracts under several extract conditions and fermented extracts from *O. ficus-indica* L. Miller (0.5 mg/ml). Significant differences were compared with control at $p < 0.05$ by student t-test.

3. 대식세포에서의 nitric oxide 생성능 측정

대식세포를 이용하여 NO⁻ 생성능을 확인한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 대식세포의 NOS (nitric oxide synthase)는 항상 존재하는 것이 아니라 TNF-α와 같은 여러 가지 cytokine과 LPS (대장균 유래 lipopolysaccharide)와 같은 세균내독소의 영향을 받아 NOS 유전자의 발현이 유도되기 때문에 (Barna *et al.*, 1984; Miyagawa *et al.*, 1988) 이번 실험에서는 시료를 LPS와 같이 투여하여 NO의 생성능을 확인하였다. 결과에서도 확인할 수 있는 것처럼 NOS 생성능에 있어서도 면역세포 및 cytokine 분비와 유의적인 결과를 나타내었다. 시료만을 첨가한 결과에서 60°C 초음파병행 물추출물이 12.3 µM로 가장 높은 대식세포 생성능을 보였으며 100°C 물 추출물이 8.3 µM로 양성대조군인 LPS와 같은 수치를 나타내며 가장 낮은 생성능을 나타내었다. 이는 양성대조군인 LPS에 비해 높은 수치로 손바닥 선인장의 면역 활성을 확인할 수 있는 결과이나 높은 면역 활성을 가진 것으로 알려진 마황, 복분자 및 당귀의 분획을 통한 연구 (Kim *et al.*, 2005)에서 같은 농도를 통해 나타난 20~30 µM와 비교하였을 때는 낮은 결과이다. 반면 시료와 LPS를 혼합 처리한 결과에서 각각의 조건이 시료만을 첨가했을 때의 8.3~12.3 µM보다 높은 14~17 µM의 결과를 나타냄에 따라 손바닥 선인장 추출물이 NO 생성능을 가지며 LPS 등 다른 물질과 상승작용을 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

4. Natural Killer cell (NK cell)의 면역증진 효과

NK 세포의 활성 측정은 B cell과 T cell에 추출물을 첨가한 후 그의 배양액을 NK 세포에 첨가하여 나타나는 생육도의 변화를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 활성을 측정하였다. Fig. 3은 B cell에 각 시료를 첨가하여 배양한 후 그 배양액

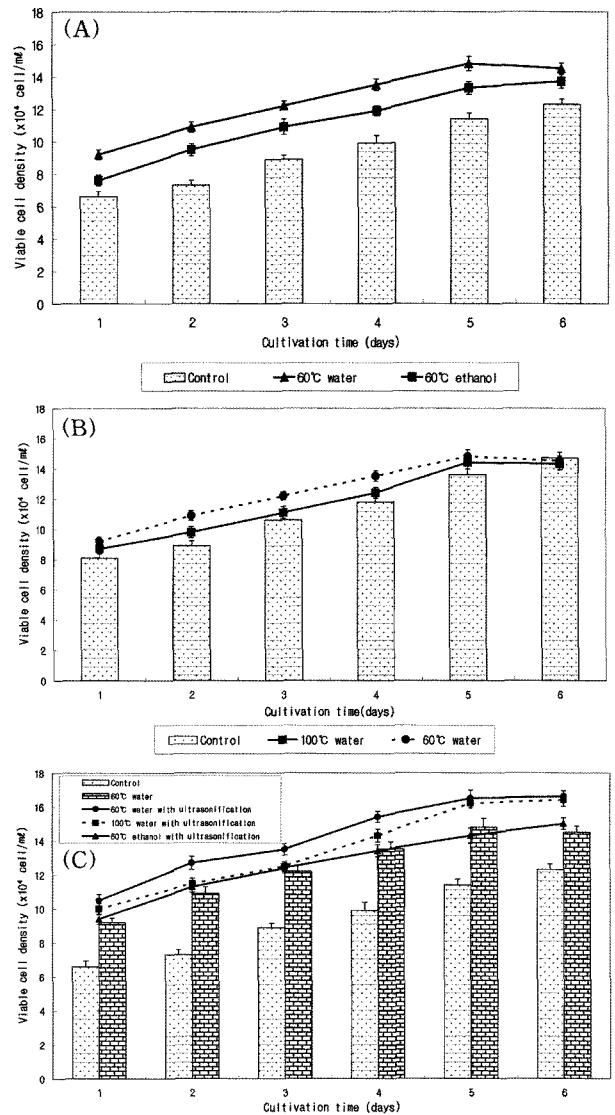


Fig. 3. Comparison of growth effect on the NK cells by added the secretions of B cell in adding the extracts were attended by different (A) solvent, (B) temperature and (C) ultrasonification process condition from *O. ficus-indica* L. Miller. Significant differences were compared with control at $p < 0.05$ by student t-test.

을 NK 세포에 첨가하였을 때 NK 세포의 활성도를 첨가시료의 추출조건별로 비교하여 나타낸 그림이다. 6일 동안 생육도를 관찰하였는데 시료를 첨가한 모든 조건에서 대조군과 비교하여 생육도가 증가하는 것을 확인할 수 있다. (A)는 용매에 따른 생육도를 나타낸 것으로 배양 6일간의 측정에서 모두 에탄올 추출물에 비해 물 추출물이 5~20% 이상 좋은 활성을 나타내었다. (B)는 온도조건에 따른 생육도를 비교한 것으로 60°C 물 추출물이 100°C 물 추출물과 비교해 5% 이상의 좋은 활성을 보였다. (C)는 (A)와 (B)를 통해 일반추출에서 가

Table 2. Comparison of growth effect through measure visible cell density on the NK cells by added the secretions of T cell in adding the extracts were attended by several conditions from *O. ficus-indica* L. Miller¹⁾

Cultivation time (day)	1	2	3	4	5	6
Extraction condition of sample	Visible cell density ($\times 10^4$ cell/ml)					
Control	8.1 \pm 0.3	8.9 \pm 0.2	10.6 \pm 0.2	11.8 \pm 0.2	13.6 \pm 0.4	14.7 \pm 0.3
60 $^{\circ}$ C EtOH	9.0 \pm 0.2	11.0 \pm 0.4	12.6 \pm 0.1	13.8 \pm 0.3	15.4 \pm 0.2	16.0 \pm 0.5
60 $^{\circ}$ C water	10.6 \pm 0.3	12.4 \pm 0.3	13.9 \pm 0.2	15.5 \pm 0.6	17.1 \pm 0.6	17.0 \pm 0.4
100 $^{\circ}$ C water	10.1 \pm 0.4	11.3 \pm 0.5	12.8 \pm 0.3	14.3 \pm 0.3	16.5 \pm 0.2	16.7 \pm 0.5
60 $^{\circ}$ C EtOH [†]	10.9 \pm 0.3	12.9 \pm 0.5	14.2 \pm 0.5	15.4 \pm 0.4	16.6 \pm 0.4	17.5 \pm 0.7
60 $^{\circ}$ C water [†]	12.0 \pm 0.1	14.3 \pm 0.6	15.3 \pm 0.3	17.5 \pm 0.3	19.0 \pm 0.5	19.3 \pm 0.5
100 $^{\circ}$ C water [†]	11.4 \pm 0.5	12.9 \pm 0.3	14.2 \pm 0.2	16.3 \pm 0.3	18.5 \pm 0.3	18.8 \pm 0.4

[†] : with ultrasonification (60 kHz)

¹⁾ Data values are expressed as mean \pm SD of triplicate determinations. The data showed significant difference in the same row at the level of $p < 0.05$ by student t-test.

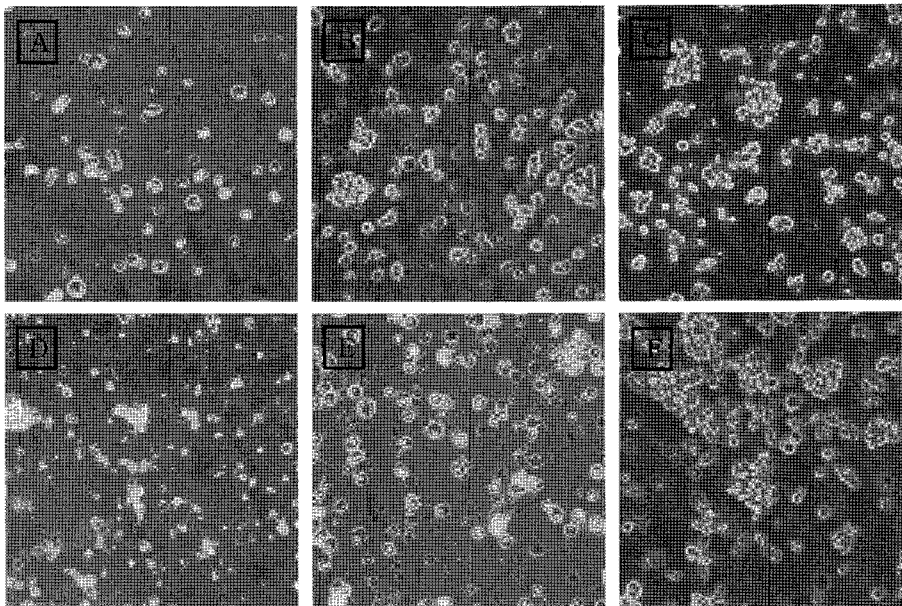


Fig. 4. Comparison of NK cell growth in adding the supernatant of human T cells after addition of the extracts (A : Control, B : 60 $^{\circ}$ C EtOH, C : 60 $^{\circ}$ C water, D : 100 $^{\circ}$ C water, E : 100 $^{\circ}$ C water with Ultrasonification, F : 60 $^{\circ}$ C water with ultrasonification).

장 좋은 활성을 나타낸 60 $^{\circ}$ C 물 추출물과 초음파를 병행한 추출물들을 비교한 것이다. 초음파를 병행한 모든 추출조건에서 대조군 및 60 $^{\circ}$ C 물 추출물보다 좋은 결과를 얻을 수 있었다. 가장 좋은 활성을 나타낸 것은 초음파를 병행한 60 $^{\circ}$ C 물 추출물로 6일째 16.6 $\times 10^4$ cells/ml를 나타내어 12.3 $\times 10^4$ cells/ml를 나타낸 대조군에 비해 약 1.35배의 활성 증가를 확인할 수 있었다. 다음으로 초음파를 병행한 100 $^{\circ}$ C 물 추출물이 16.4 $\times 10^4$ cells/ml를 나타내며 모든 기간에서 좋은 활성을 나타냈다.

Table 2는 T cell에 각 시료를 첨가하여 배양한 후 그 배양액을 NK 세포에 첨가하였을 때 NK 세포의 활성도를 표로 나타낸 것이다. B cell에서와 마찬가지로 6일 동안의 생육도

측정 결과, 시료를 첨가한 모든 조건에서 대조군에 비해 생육도가 증진되었음을 Fig. 4를 통해 확인할 수 있다. 용매에 따른 비교를 통해 배양 6일간의 측정에서 모두 에탄올 추출물에 비해 물 추출물이 3~25% 이상 좋은 활성을 나타낸 것을 확인하였다. 온도조건에 따른 비교에서도 60 $^{\circ}$ C 물 추출물이 100 $^{\circ}$ C 물 추출물과 비교해 좋은 활성을 나타내었다. B cell에서와 같이 초음파를 병행한 모든 추출조건에서 대조군 및 60 $^{\circ}$ C 물 추출물보다 좋은 결과를 얻을 수 있었다. 그 중 5일째 가장 좋은 활성을 나타낸 것은 초음파를 병행한 60 $^{\circ}$ C 물 추출물로 20.7 $\times 10^4$ cells/ml를 나타냄으로서 역시 대조군과 비교하여 약 1.3배의 활성 증가를 보여주었다. 이상의 결과를 통해 앞에서 살펴본 면역세포의 증식에서와 마찬가지로 초음파를 병행한

60℃ 물 추출물이 높은 면역 활성 성분을 가질 것으로 사료된다. 또한 NK cell의 생육 증진 활성을 통해 손바닥 선인장 추출물은 물을 용매로 하여 60℃에서 초음파 공정을 병행하였을 때 가장 높은 면역 활성을 나타냄을 확인할 수 있었다.

따라서 본 연구를 통해 손바닥 선인장은 면역 활성을 나타내는 성분을 함유하고 있으며, 초음파병행 추출공정을 통해 유효성분의 면역 활성 증진효과를 기대할 수 있음을 확인하였다. 이는 초음파병행 공정을 통한 공동현상의 높은 압력으로 세포 내부조직이 파괴되어 지방질의 이동거리가 짧아지고 확산이 용이하게 일어나기 때문으로 사료된다 (Chung *et al.*, 2000; Kim *et al.*, 2001). 또한 용매 및 온도에 따른 결과를 통해 손바닥 선인장의 면역 활성 물질은 에탄올보다 물을 통한 추출에 더욱 잘 용출되는 수용성 물질이며 열수추출 공정 등에 의한 고온의 영향을 받아 변성 또는 활성의 감소를 가지는 것으로 사료되는데, 이는 열수 추출방법이 열로 인한 유용성분의 파괴, 단백질의 변이, 성분의 손실, 가용성분 위주의 추출, 열에 대하여 불안정한 것 등의 단점을 가지기 때문인 것으로 사료된다 (Park *et al.*, 2004). 따라서 손바닥 선인장 유용물질의 효과적인 추출을 위해 물을 용매로 하여 100℃ 이하 60℃에서 초음파를 병행하여 추출하는 공정이 바람직할 것으로 사료되는 바이다.

감사의 글

본 연구논문은 2006년도 중소기업청에서 시행한 향토산업 신기술융합화 개발사업의 지원에 의해 얻은 결과이므로 이에 감사드립니다.

LITERATURE CITED

- Ahn DK (1998) Illustrated book of Korean medicinal herb. Kyohaksa. Seoul., p. 497.
- Barna BP, Deodhar SD, Gautam S, Yen-Lieberman B, Roberts D (1984) Macrophage activation and generation of tumoricidal activity by liposome-associated human C-reactive protein. *Cancer Res.* 44(1):305-310.
- Cecilia K. Lindholm (2002) IL-2 receptor signaling through the Shb adapter protein in T and NK cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 296:929-936.
- Chung K, Kim WI, Hong IK, Park KA (2000) Ultrasonic energy effects on squalene extraction from amaranth seed. *Applied Chemistry* 4(2):149-152.
- Chung MS, Kim KH (1996) Stability of betanine extracted from *Opuntia ficus-indica* var. saboten. *Korean J. Soc. Food Sci.* 12(4):506-510.
- Cunnane G, Hummel KM, Muller-Ladner U, Gay RE, Gay S (1998) Mechanism of joint destruction in rheumatoid arthritis. *Arch. Immunol. Ther. Exp.(Warsz)* 46:1-7.
- Ding AH, CF Nathan, DJ Stuhr (1998) Release of reactive nitrogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages. *J. Immunol.* 141:2407-2412.
- Gay S, Gay RE, Koopman WJ (1993) Molecular and cellular mechanisms of joint destruction in rheumatoid arthritis : Two cellular mechanisms explain joint destruction. *Ann. Rheum Dis.* 52:39-47.
- Han BH, Park MH, Cho JY, Park JS, Yoo ES and Baik KU (1998) Effect of ginsenosides from *Panax ginseng* on TNF- α production and T cell proliferation. *Yakhak Hoeji* 42(3):296-301.
- Hotta M (1989) Useful plants of the World. Pyungbumsa. Tokyo., p. 53.
- Kim DH, Park JH, Kim JH, Kim CH, You JH, Kwon MC, Lee HY (2005) Enhancement of immune activities of *Ephedrae* Herba and *Rubi* Fructus at low temperature extraction. *Korean J. Med. Crop Sci.* 13(3):81-86.
- Kim IH, Kim MH, Kim HM, Kim YE (1995) Effect of antioxidants on the thermostability of red pigment in prickly pear. *Korean J. Food Sci. Technol.* 27(6):1013-1016.
- Kim JH, Kim DH, You JH, Kwon MC, Lee HJ, Lee HJ, Lee HY (2005) Anticancer and immune activities of the extracts from *Amorpha fruticosa* L. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 13(1):41-47.
- Kim TJ (1996) Korean source of plants II. Seoul National University Publishing Dept., Seoul., p. 266.
- Kim WI, Shung KW, Lee SB, Hong IK, Park KA (2001) Ultrasound energy effects on solvent extraction of amaranth seed oil. *J. Korean Ind. Eng. Chem.* 12(3):307-311.
- Lee HJ (1997) A study on antiulcer effects of *Opuntia dillenii* Haw. on stomach ulcer induced by waterimmersion stress in wats. M.S. thesis. Seoul national Univ., Seoul., Korea.
- Lee MK, Choi GP, Ryu LH, Lee GY, Yu CY, Lee HY (2004) Enhancement immune activity and cytotoxicity of *Artemisia capillaris* Thunb. extracts against human cell lines. *Korean J. Med. Crop Sci.* 12(1):34-42.
- Lee MK, Lee SH, Choi GP, Yu CY, Lee JH, Lee HY (2003) Screening of immune enhancement activities of the extracts from *Rosa rugosae* Radix. *Korean J. Med. Crop Sci.* 11(1):13-18.
- Lee SH, Lee HS, Park YS, Hwang B, Kim JH, Lee HY (2002) Screening of immune activation activities in the leaves of *Dendropanax morbifera* Lev. *Kor. J. Med. Crop Sci.* 10:109-115.
- Lee YC, Hwang KH, Han DH, Kim SD (1997) Compositions of *Opuntia ficus-indica*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29(5):847-853.
- Leistad L, Ostensen M, Faxvaag A (1998) Detection of cytokine mRNA in human articular cartilage from patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis by reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Scand J. Rheumatol.* 27:61-67.
- Miyagawa N, Okamoto Y, Nakano H (1988) Effect of c-reactive protein on peritoneal macrophages. II. Human C-reactive protein activates peritoneal macrophages of guinea pigs to release superoxide anion *in vitro*. *Microbiol Immunol.* 32(7):721-731.
- Kim DH, Kim JH, You JH, Kim CH, Kwon MC, Lee HJ, Hwang B, Lee HY (2005) Screening of anticancer and

- immune activities by the extracts of *Fatsia japonica* Decne. et Planch. Korean J. Med. Crop Sci. 13(3):87-92.
- Park JH, Lee HS, Mun HC, Kim DH, Seong NS, Jung HG, Bang JK, Lee HY** (2004) Improvement of anticancer activation of ultrasonificated extracts from *Acanthopanax senticosus* Harms. *Ephedra sinica* Stapf. *Rubus coreanus* Miq. and *Artemisia capollaris* Thunb. Korean J. Med. Crop Sci. 12(4):273-278.
- Pyungbumsa** (1989) Useful plants of the World. Tokyo. p. 53.
- Tanuma N, Kojima T, Shin T, Aikawa Y, Kohji T, Ishihara Y, matsumoto Y** (1997) Competitive PCR quantification of pro- and anti-inflammatory cytokine mRNA in the central nervous system during autoimmune encephalomyelitis. J. neuroimmunol. 73:197-206.
- Yueran Z, Rui S, You L, Chunyi G, Zhigang T** (2003) Expression of leptin receptors and response to leptin stimulation of human natural killer cell lines. Biochemical and Biophysical Research Communications 300:247-252.