

白蔘과 紅蔘이 포함된 理中湯의 마우스 대식세포 내 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향

박완수*

경원대학교 한의과대학 병리학교실

Effects of Red Ginseng-Ejung-tang and White Ginseng-Ejung-tang Water Extract on Hydrogen Peroxide Production in RAW 264.7 Cells

Wan Su Park*

Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Kyungwon University

The purpose of this study is to investigate whether the intracellular hydrogen peroxide productions of mouse macrophage RAW 264.7 are modulated by Red Ginseng-Ejung-tang water extract (ER) and White Ginseng-Ejung-tang water extract (EG). Red Ginseng-Ejung-tang were composed of Red Ginseng, Atractylodes rhizome white, Zingiberis Rhizoma Siccus, and Glycyrrhizae Radix. White Ginseng-Ejung-tang were composed of White Ginseng, Atractylodes rhizome white, Zingiberis Rhizoma Siccus, and Glycyrrhizae Radix. The intracellular hydrogen peroxide productions were measured by dihydrorhodamine 123 assay with spectrofluorometer (excitation 485 nm; emission 535 nm). For 4, 20, 24, 44, 48, 68, and 72 h incubation, ER significantly increased hydrogen peroxide productions of RAW 264.7 at the concentration of 25, 50, 100, and 200 µg/mL ($P < 0.05$). EG for 4, 20, 24, 44, and 48 h incubation significantly increased hydrogen peroxide productions of RAW 264.7 at the concentration of 25, 50, 100, and 200 µg/mL ($P < 0.05$). For 68 and 72 h incubation, EG at the concentration of 50, 100, and 200 µg/mL significantly increased hydrogen peroxide productions in RAW 264.7 ($P < 0.05$). These results suggest that ER and EG have the immune-enhancing properties related with their increasing effects on the intracellular hydrogen peroxide production of macrophage.

Key words : Ejung-tang, Red Ginseng, White Ginseng, macrophage, hydrogen peroxide

서 론

이중탕(理中湯)은 인삼(人蔘), 백출(白朮), 건강(乾薑), 자감초(炙甘草)로 구성되며 한대(漢代) 장중경(張仲景)의 상한론(傷寒論)에 '이중환(理中丸)'으로 기재되어 있는 처방으로서 한냉성 위장질환(寒冷性 胃腸疾患)에 널리 응용된다. 이중탕의 효능은 속을 따듯이 하여 한사(寒邪)를 몰아내고(溫中祛寒)하고 비위(脾胃)의 작용을 도와주어 강하게 하는(補脾益胃) 것이다. 주로 비위(脾胃)가 허하고 차서(虛寒) 설사가 스스로 나오나 갈증이 나지는 않는 상태나 혹은 복통(腹痛)을 수반한 구토와 헛배가 부르면서 음식을 잘 먹지 못하는 것(腹滿不食)이 광란(穢亂)으로 발전한 경우, 양(陽)이 허하여 출혈이 된 경우, 어린아이가 만경병(慢驚

病) 후에 침을 많이 흘리는 경우, 가슴이 저리고 아픈 것(胸痺)이 중초허한(中焦虛寒)에 기인한 경우에 적용될 수 있다^{1,2)}. 본 처방에 부자(附子)를 가한 부자이중환(附子理中丸)은 맥이 약하고 손발이 차며 정신을 잃어 눈을 제대로 감지 못하거나 또는 한사(寒邪)가 인체 내부에 침입하여 토사곽란(吐瀉霍亂)과 함께 몸근육의 뒤틀림, 입을 꼭 다물고 열지 않음(口噤), 팔다리에 강직이 오는 증상들, 즉 비장(脾臟)과 신장(腎臟)의 양기(陽氣)가 허한 병기와 관련된 음한중증(陰寒重症)에 적용된다고 하였다. 그 외에 배꼽위쪽으로 신기(腎氣)가 동(動)하는 경우에는 백출(白朮)을 빼고 육계(肉桂)를 추가하며, 토(吐)하는 것이 심한 경우에는 백출(白朮) 대신에 생강(生薑)을 넣어준다고 하였고, 복통(腹痛)이 심하면 목향(木香)을 추가하며, 반위구토(反胃嘔吐)가 심한 경우에는 생강(生薑)과 반하(半夏)를 더해주거나 정향(丁香), 백두구(白豆蔻)를 더해주며, 수종(水腫)에는 복령(茯苓), 택사(澤瀉),冬瓜皮 등을 더해준다고 하였다¹⁾.

* 교신저자 : 박완수, 성남시 수정구 복정동 경원대학교 한의과대학

· E-mail : hang198@naver.com, · Tel : 031-750-8821

· 접수 : 2010/10/22 · 수정 : 2010/12/10 · 채택 : 2011/01/25

하이드로젠 퍼옥사이드(Hydrogen peroxide; H₂O₂; 과산화수소)는 세포 내에서 발생하는 활성산소종(reactive oxygen species; ROS)의 일종이며 인체 면역증반응의 중요한 일면을 담당하고 있다. 인체는 외부로부터 바이러스, 세균, 진균, 프로토조아 등 각종의 병원체가 침입하면 다양한 면역증반응을 일으키는데, 대식세포의 산화분출(oxidative burst)은 침입한 병원체 제거를 위한 효과적인 방법이다. 그러므로 대식세포에 의한 Hydrogen peroxide 생성증가는 이러한 병원체 제거의 중요 기전으로 이해되고 있다.³⁻⁵⁾

본 연구에서는 백삼(白蔘)이 포함된 백삼이중탕(白蔘理中湯)과 홍삼(紅蔘)이 포함된 홍삼이중탕(紅蔘理中湯)이 마우스대식세포 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 in vitro 실험을 수행하고 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 시약 및 기기

본 실험에 사용된 시약 중 Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM), heat-inactivated fetal bovine serum(FBS), penicillin and streptomycin, phosphate-buffered saline(PBS, pH 7.4)은 Gibco BRL사(Grand Island, NY, USA)에서, dimethyl sulfoxide(DMSO), dihydrorhodamine 123(DHR) 등은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 각 시약의 품질은 분석용 등급 이상의 것으로 하여 사용하였으며 본 실험에 사용된 기기는 CO₂ incubator(NUAIRE, USA), clean bench(Jeiothec, Korea), rotary vacuum evaporator(Eyela, Japan), research microscope(Becton dickinson, USA), centrifuge(Gyrozen, Korea), water bath(Sae Han, Korea), vortex mixer(Vision Scientific Co, Korea), freeze dryer(Eyela), deep freezer(Gudero, Ilshin Lab, Korea), microplate reader(Bio-Rad model 680, Hercules, CA, USA), TRIAD LT spectrofluorometer(Dynex, Chantilly, VA, USA) 등이다.

2) 약제

본 실험에 사용된 약제 중 백삼(白蔘), 백출(白朮), 건강(乾薑), 감초(甘草)는 웬니허브주식회사(대구, 한국)로부터 구입하였으며 홍삼(紅蔘)은 한국인삼공사(대전, 한국)로부터 구입, 검정한 후 사용하였으며, 검정된 약제들은 경원대학교 한의과대학 병리학교실에 보관되었다.

2. 방법

1) 시료의 제조

시료의 제조는 이미 보고한 선행연구^{6,7)}의 방법에 따라 다음과 같이 시행하였다. 백삼(白蔘), 백출(白朮), 건강(乾薑), 감초(甘草) 각 12.5 g을 혼합하여 얻은 백삼이중탕(白蔘理中湯) 50 g을 전기약탕기에 1차 증류수 1,000 mL와 함께 넣은 뒤 150분 동안 가열, 추출하였다. 추출이 끝난 뒤 추출액을 filter

paper(Advantec No.2, Japan)로 감압 여과한 뒤, 여과액을 rotary vacuum evaporator를 이용하여 농축하였다. 이 농축액을 동결건조기를 이용하여 건조하여 백삼이중탕 동결건조추출물(EG) 15.5 g을 얻었으며 수율은 31%였다. 또한 홍삼(紅蔘), 백출(白朮), 건강(乾薑), 감초(甘草) 각 12.5 g을 혼합하여 얻은 홍삼이중탕(紅蔘理中湯) 50 g을 전기약탕기에 1차 증류수 1,000 mL와 함께 넣은 뒤 150분 동안 가열, 추출하였다. 추출이 끝난 뒤 추출액을 filter paper(Advantec No.2, Japan)로 감압 여과한 뒤, 여과액을 rotary vacuum evaporator를 이용하여 농축하였다. 이 농축액을 동결건조기를 이용하여 건조하여 홍삼이중탕 동결건조추출물(ER) 16.67 g을 얻었으며 수율은 33%였다. 감초(甘草)는 추출하기 전에 열을 가하여 자감초(炙甘草)로 만든 후 사용하였다.

2) Cell line

실험에 사용된 세포주는 마우스 대식세포(mouse macrophage RAW 264.7 cell line; RAW 264.7)로서 한국세포주은행(KCLB, Korea)에서 구입하여 사용하였다.

3) 세포 배양

RAW 264.7은 37°C, 5% CO₂ 조건에서 10% FBS, penicillin(100 U/mL), streptomycin(100 µg/mL)이 첨가된 DMEM 배지로 배양되었다. 세포들이 75 cm² flask(Falcon, USA)에서 충분히 증식될 때까지 배양 3일 간격으로 배양세포 표면을 phosphate buffered saline(PBS; Sigma, USA) 용액으로 씻어주고 새로운 배지로 갈아주었으며, 충분히 증식된 후에는 75 cm² flask 당 3 mL의 0.25 % trypsin-EDTA용액을 넣고 실온에서 1분간 처리한 다음 trypsin용액을 버리고 37 °C에서 5분간 보관하여 세포를 탈착한 후 계대 배양하였다. 탈착된 세포는 10% FBS가 첨가된 DMEM 배양액 10 mL에 부유시킨 다음 새로운 배양기에 옮겨 1 : 2의 split ratio로 CO₂ 배양기(37°C, 5% CO₂)에서 배양하였다.

4) Dihydrorhodamine 123(DHR) assay

세포 내의 hydrogen peroxide(H₂O₂) 생성은 Roesler 등⁸⁻¹²⁾의 방법을 응용, dihydrorhodamine 123(DHR) assay를 실시하여 측정하였다. DHR은 비형광이지만 세포 내에서 세포 내 H₂O₂에 의하여 산화되어 녹색의 형광을 발현하는 물질인 rhodamine 123로 바뀌게 된다. 그러므로 여러 가지 산화적 반응을 일으키는 물질들로 인해 인간 세포 내에서 발생하는 hydrogen peroxide의 수준을 DHR assay를 이용하여 측정할 수 있다. 본 실험에서는 세포 내 H₂O₂ 생성에 대한 시료의 영향을 측정하였다. 96 well plate에 1×10⁴ cells/well의 농도로 분주되도록 1×10⁵ cells/mL의 cell을 100 µl씩 넣고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24 시간 동안 배양한 후 배지를 버리고 배양세포 표면을 phosphate buffered saline(PBS) 용액으로 씻어주었다. 시료를 처리하기 전에 우선 DHR(10 uM)이 담긴 배지를 30분간 각 well에 처리한 뒤 배지를 제거하였다. 그리고 다양한 농도의 시료들을 배지에 담아 각 well에 처리하고 4, 20, 24, 44, 48, 68, 72 시간 동안 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양한 후 spectrofluorometer(TRIAD LT; excitation filter 485 nm and emission filter 535 nm)를 이용하여 세포내 hydrogen peroxide 생성량을 측정, 비교하였다.

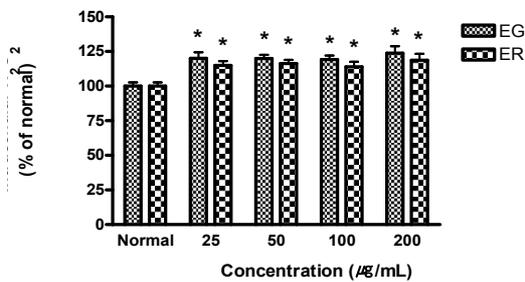
3. 통계처리

실험성적은 평균치 ± 표준편차(Mean ± SD)로 나타내었으며, 대조군과 각 실험군과의 평균 차이는 Student t-test로 분석하여 $P < 0.05$ 일 때 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

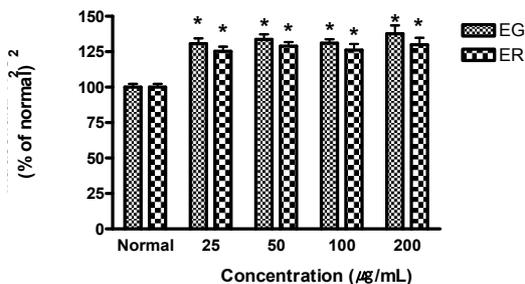
1. EG와 ER의 4시간 배양이 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향

EG와 ER로 4시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 측정한 결과 EG, ER 모두 유의한 증가를 나타내었다(Fig. 1).



	EG	ER
Normal	100±2.65	100±2.65
25 (µg/mL)	120.09±4.38*	114.99±3.1*
50 (µg/mL)	119.9±2.71*	116.29±2.6*
100 (µg/mL)	119.22±2.81*	113.95±3.56*
200 (µg/mL)	123.78±4.97*	118.69±4.6*

Fig. 1. Effects of ER and EG on the intracellular hydrogen peroxide production of RAW 264.7 for 4 h incubation. RAW 264.7 cells were incubated with EG or ER for 4 h. Results are represented as mean ± SD. EG : Water extract of White Ginseng-Ejung-tang. ER : Water extract of Red Ginseng-Ejung-tang. Normal : Treated with medium only. * represents $P < 0.05$ compared to the Normal.



	EG	ER
Normal	100±2.36	100±2.36
25 (µg/mL)	130.66±3.76*	125.27±3.31*
50 (µg/mL)	133.65±3.68*	128.88±2.97*
100 (µg/mL)	131.07±2.72*	126.13±4.3*
200 (µg/mL)	137.66±5.89*	129.9±4.88*

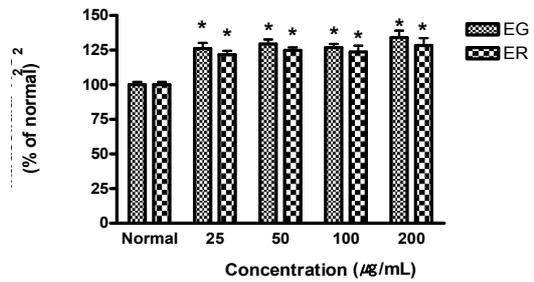
Fig. 2. Effects of ER and EG on the intracellular hydrogen peroxide production of RAW 264.7 for 20 h incubation. RAW 264.7 cells are mouse macrophages. Results are represented as mean ± SD. EG : Water extract of White Ginseng-Ejung-tang. ER : Water extract of Red Ginseng-Ejung-tang. Normal : Treated with medium only. * represents $P < 0.05$ compared to the Normal.

2. EG와 ER의 20시간 배양이 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향

EG와 ER로 20시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 측정한 결과 EG, ER 모두 유의한 증가를 나타내었다(Fig. 2).

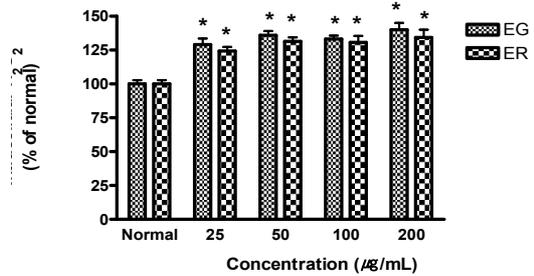
3. EG와 ER의 24시간 배양이 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향

EG와 ER로 24시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 측정한 결과 EG, ER 모두 유의한 증가를 나타내었다(Fig. 3).



	EG	ER
Normal	100±2	100±2
25 (µg/mL)	126.05±4.18*	121.63±2.85*
50 (µg/mL)	129.45±3.22*	124.8±2.18*
100 (µg/mL)	126.76±2.66*	123.69±4.44*
200 (µg/mL)	134.01±4.99*	128.34±5.3*

Fig. 3. Effects of ER and EG on the intracellular hydrogen peroxide production of RAW 264.7 for 24 h incubation. RAW 264.7 cells are mouse macrophages. Results are represented as mean ± SD. EG : Water extract of White Ginseng-Ejung-tang. ER : Water extract of Red Ginseng-Ejung-tang. Normal : Treated with medium only. * represents $P < 0.05$ compared to the Normal.



	EG	ER
Normal	100±2.79	100±2.79
25 (µg/mL)	129.04±4.52*	124.3±3.02*
50 (µg/mL)	135.97±3.1*	131.41±3.03*
100 (µg/mL)	133.14±2.54*	130.71±4.76*
200 (µg/mL)	140.01±5.07*	134.25±5.77*

Fig. 4. Effects of ER and EG on the intracellular hydrogen peroxide production of RAW 264.7 for 44 h incubation. RAW 264.7 cells are mouse macrophages. Results are represented as mean ± SD. EG : Water extract of White Ginseng-Ejung-tang. ER : Water extract of Red Ginseng-Ejung-tang. Normal : Treated with medium only. * represents $P < 0.05$ compared to the Normal.

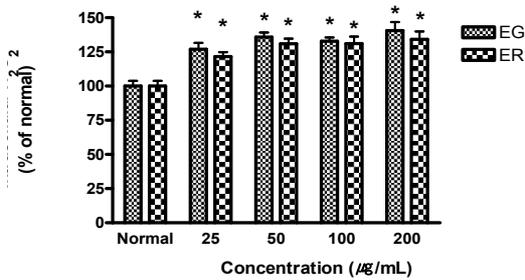
4. EG와 ER의 44시간 배양이 RAW 264.7의 hydrogen peroxide

생성에 미치는 영향

EG와 ER로 44시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 측정한 결과 EG, ER 모두 유의한 증가를 나타내었다(Fig. 4).

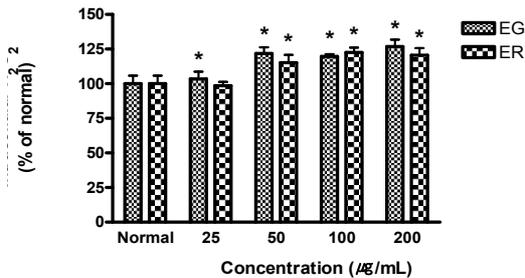
5. EG와 ER의 48시간 배양이 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향

EG와 ER로 48시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 측정한 결과 EG, ER 모두 유의한 증가를 나타내었다(Fig. 5).



	EG	ER
Normal	100±3.85	100±3.85
25 (µg/mL)	126.99±4.6*	121.53±3.29*
50 (µg/mL)	135.79±3.42*	130.9±3.83*
100 (µg/mL)	132.81±2.7*	131±5.21*
200 (µg/mL)	140.54±6.23*	134.21±5.75*

Fig. 5. Effects of ER and EG on the intracellular hydrogen peroxide production of RAW 264.7 for 48 h incubation. RAW 264.7 cells are mouse macrophages. Results are represented as mean ± SD. EG : Water extract of White Ginseng-Ejung-tang. ER : Water extract of Red Ginseng-Ejungtang. Normal : Treated with medium only. * represents $P < 0.05$ compared to the Normal.



	EG	ER
Normal	100±5.81	100±5.81
25 (µg/mL)	103.39±5.34*	98.58±2.71
50 (µg/mL)	121.8±4.56*	115.22±5.64*
100 (µg/mL)	119.74±1.59*	122.54±3.57*
200 (µg/mL)	126.83±5.04*	120.51±5.19*

Fig. 6. Effects of ER and EG on the intracellular hydrogen peroxide production of RAW 264.7 for 68 h incubation. RAW 264.7 cells are mouse macrophages. Results are represented as mean ± SD. EG : Water extract of White Ginseng-Ejung-tang. ER : Water extract of Red Ginseng-Ejung-tang. Normal : Treated with medium only. * represents $P < 0.05$ compared to the Normal.

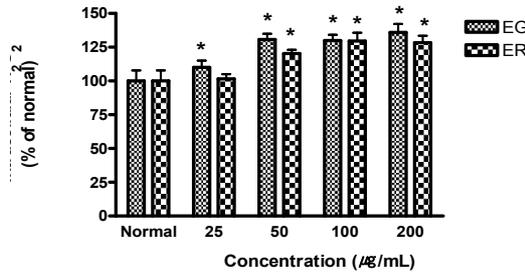
6. EG와 ER의 68시간 배양이 RAW 264.7의 hydrogen peroxide

생성에 미치는 영향

EG와 ER로 68시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 측정한 결과 50 µg/mL 이상의 농도에서 EG, ER 모두 유의한 증가를 나타내었다(Fig. 6).

7. EG와 ER의 72시간 배양이 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향

EG와 ER로 72시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 측정한 결과 50 µg/mL 이상의 농도에서 EG, ER 모두 유의한 증가를 나타내었다(Fig. 7).



	EG	ER
Normal	100±7.76	100±7.76
25 (µg/mL)	110±5.09*	101.55±3.46
50 (µg/mL)	130.68±4.25*	120.33±2.69*
100 (µg/mL)	129.94±4.3*	129.52±6.22*
200 (µg/mL)	135.93±6.31*	128.35±5.08*

Fig. 7. Effects of ER and EG on the intracellular hydrogen peroxide production of RAW 264.7 for 72 h incubation. RAW 264.7 cells are mouse macrophages. Results are represented as mean ± SD. EG : Water extract of White Ginseng-Ejung-tang. ER : Water extract of Red Ginseng-Ejungtang. Normal : Treated with medium only. * represents $P < 0.05$ compared to the Normal.

고찰

인체가 생명활동을 영위해 나감에 있어 외부로부터 침입하는 다양한 병원체(세균, 바이러스, 프로토조아, 곰팡이균 등)는 다양한 면역증반응을 유발한다. 즉, 외부로부터 침입하는 병원체들을 제거하는 인체방어체계가 바로 면역증체계인것이다. 면역증체계에는 다양한 면역세포들, 예를 들면 중성구, 호염구, 호산구, T-림프구, B-림프구, 단핵구, 대식세포, 자연살해세포(NK cell) 등이 포함되며 이 중에서 침입병원체를 인지하여 탐식하거나 침입신호를 다른 면역세포에게 보내는 신호를 담당하는 주요 면역세포가 대식세포(macrophage; 탐식세포)이다. 대식세포는 인체의 면역증방어체계를 통하여 외부로부터 침입하는 다양한 병원체·병원체들을 제거할 뿐만아니라, 인체 내부에서 자체적으로 발생하는 세포부산물 또는 암세포와 같은 비정상적인 세포를 제거하는 역할도 한다. 대식세포에 의한 이러한 자기방어·자기보존작용은 다양한 세포방출인자에 의해서 이루어지는데 hydrogen peroxide와 같은 활성산소종을 대량으로 생성·방출함을 통한 산화분출(oxidative burst)도 중요한 기전중의 하나이다. 즉, 산화분출을 통하여 대식세포는 생체항상성 유지에

위협적인 병원체와 비정상세포들을 공격, 제거하는 것이다^{13,14}.

Hydrogen peroxide(H₂O₂)는 세포 내에서 발생하는 활성산소종(reactive oxygen species; ROS)의 일종이며 일반적으로 세포의 산화적 stress를 유발하는 인자로 알려져 있다. 또한 인체의 면역기능과도 중요한 관계에 있다. 즉 인체 내의 염증반응이 커지면 neutrophils 등의 세포는 ROS 생성을 많이 하고 이는 immunologic reaction을 유발하며, 대식세포의 산화분출(oxidative burst)은 주변의 세포조직을 손상시키는 부작용이 있음에도 불구하고, 인체의 정상적 생명활동 영위에 장애가 되는 다양한 병적 인자들을 제거하는 효과적인 방법이 되며, hydrogen peroxide 생성은 이러한 산화분출의 중요 기전으로 이해되고 있다. 그러므로 대식세포의 hydrogen peroxide 생성이 증가됨은 인체 외부로부터 침입하는 세균, 바이러스, 진균 등의 각종 병원체와 인체 내부적으로 발생하는 세포노폐물 및 비정상적 세포들을 제거하는 역할이 강화되는 것으로 해석될 수 있다. 한편, 최근에 발표된 연구들 중에 macrophage의 ROS 생성 증가가 T-cell과 관련된 arthritis를 억제하는 등 자가면역질환 발생을 방어하는 작용이 있음도 보고¹⁵⁻¹⁹된 바 있다.

인삼(人蔘), 백출(白朮), 건강(乾薑), 자감초(炙甘草)로 구성되는 이중탕(理中湯)은 한(漢)의 장중경(張仲景)의 상한론(傷寒論)에 '이중환(理中丸)'으로 나오는 처방으로 비위중초(脾胃中焦)의 허한(虛寒)으로 인한 각종의 소화장애, 설사, 구역, 구토, 헛배부름, 식욕부진, 복통 등의 소화기질환 뿐만 아니라 비위(脾胃)의 양기허(陽氣虛)에서 비롯되는 맥약(脈弱), 맥침무력(脈沈無力), 가슴저림(胸痺), 가슴이 그윽하고 답답함(胸痞), 허한성 복통(腹痛), 사지역냉(四肢逆冷), 음한중증(陰寒重證)에 적용될 수 있는 것으로 알려져 있다^{1,2}.

이중탕(理中湯)에 대한 최근의 연구로 하 등²⁰이 가감이중탕(加減理中湯)이 실험관내 실험에서 자연살해세포(NK cell)의 활성을 증가시킴에 대해서 보고한 바 있다. 그러나 이중탕(理中湯)의 구성약물 중 '인삼(人蔘)'에 해당하는 '백삼(白蔘)'이나 '홍삼(紅蔘)'이 들어간 이중탕물추출물이 대식세포의 하이드로젠 퍼록사이드(hydrogen peroxide)의 생성에 미치는 영향에 대해서 아직까지 보고된 바 없다.

본 연구에서는 백삼(白蔘)이 포함된 백삼이중탕(白蔘理中湯)물추출물과 홍삼(紅蔘)이 포함된 홍삼이중탕(紅蔘理中湯)물추출물을 다양한 농도(25, 50, 100, 200 µg/mL)로 4, 20, 24, 44, 48, 68, 72시간동안 각각 마우스대식세포 RAW 264.7에 처리한 후 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향을 조사하였다. 홍삼이중탕물추출물은 4, 20, 24, 44, 48, 68, 72시간의 모든 시간에서 유의하게 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 증가시켰으며, 백삼이중탕물추출물은 4, 20, 24, 44, 48시간처리의 경우에는 25 µg/mL 이상의 농도에서, 68시간과 72시간처리의 경우에는 50 µg/mL 이상의 농도에서 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 유의하게 증가시켰다($P < 0.05$).

이러한 실험결과는 백삼(白蔘)이 포함된 이중탕(理中湯)은 물론이고 홍삼(紅蔘)이 포함된 이중탕(理中湯)이 대식세포의 하이드로젠 퍼록사이드 생성증가를 유발함으로써, 세균이나 진균

류와 같은 외부침입 병원체뿐만 아니라, 체내에서 발생하는 비정상적 세포 혹은 노후세포잔존물을 제거하는 인체항상성유지작용을 도와주는 작용이 있음을 의미한다. 앞으로 홍삼이중탕(紅蔘理中湯) 및 백삼이중탕(白蔘理中湯)의 면역강화작용에 대한 보다 세심한 연구가 필요한 것으로 판단된다.

결론

본 연구에서는 백삼(白蔘)이 포함된 백삼이중탕(白蔘理中湯)물추출물과 홍삼(紅蔘)이 포함된 홍삼이중탕(紅蔘理中湯)물추출물을 다양한 농도(25, 50, 100, 200 µg/mL)로 4, 20, 24, 44, 48, 68, 72시간동안 각각 마우스대식세포 RAW 264.7에 처리한 후 하이드로젠 퍼록사이드 생성에 미치는 영향을 알아보기 위해 인비트로(in vitro) 실험을 수행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

홍삼이중탕물추출물은 4, 20, 24, 44, 48, 68, 72시간의 모든 시간에서 유의하게 RAW 264.7의 하이드로젠 퍼록사이드 생성을 증가시켰으며, 백삼이중탕물추출물은 4, 20, 24, 44, 48시간처리의 경우에는 25 µg/mL 이상의 농도에서, 68시간과 72시간처리의 경우에는 50 µg/mL 이상의 농도에서 RAW 264.7의 하이드로젠 퍼록사이드 생성을 유의하게 증가시켰다($P < 0.05$).

이러한 실험결과는 백삼(白蔘)이 포함된 이중탕(理中湯)은 물론이고 홍삼(紅蔘)이 포함된 이중탕(理中湯)이 대식세포의 하이드로젠 퍼록사이드 생성증가를 유발함으로써, 세균이나 진균류와 같은 외부침입 병원체뿐만 아니라, 체내에서 발생하는 비정상적 세포 혹은 노후세포잔존물을 제거하는 인체항상성유지작용을 도와주는 작용이 있음을 의미한다. 앞으로 홍삼이중탕(紅蔘理中湯) 및 백삼이중탕(白蔘理中湯)의 면역강화작용을 규명하기 위하여 보다 많은 연구가 필요한 것으로 판단된다.

감사의 글

이 논문은 『2010년도 교육과학기술부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업(2010-0022919)』 및 『2011년도 경원대학교 연구비지원』, 그리고 『대한한의학회 2009년도 연구사업<홍삼연구>』에 의하여 수행된 연구결과입니다.

참고문헌

- 廣州中醫學院 主編, 이상인, 김동찬, 이영종, 노승현, 주영승 공편역. 서울, 영림사, pp 144-146, 1990.
- 황도연. 대역중맥 방약합편. 서울, 남산당, pp 127-128, 1992.
- Guñazú, N., Carrera-Silva, E.A., Becerra, M.C., Pellegrini, A., Albesa, I., Gea, S. Induction of NADPH oxidase activity and reactive oxygen species production by a single Trypanosoma cruzi antigen. Int J Parasitol. 40(13):1531-1538, 2010.
- Newman, S.L. Macrophages in host defense against

- Histoplasma capsulatum. Trends Microbiol. 7(2):67-71, 1999.
5. Supek, F., Supekova, L., Nelson, H., Nelson, N. Function of metal-ion homeostasis in the cell division cycle, mitochondrial protein processing, sensitivity to mycobacterial infection and brain function. J Exp Biol. 200(Pt 2):321-330, 1997.
 6. 박완수. EtOH 등의 독성물질에 대한 유산균발효액 추출물의 간세포보호효과. 동의생리병리학회지 24(3):457-462, 2010.
 7. 박완수. 마우스 대식세포(RAW 264.7)에 대한 艾葉 물추출물의 생리활성 연구. 동의생리병리학회지 22(4):815-820, 2008.
 8. Jirapongsananuruk, O., Malech, H.L., Kuhns, D.B., Niemela, J.E., Brown, M.R., Anderson-Cohen, M., Fleisher, T.A. Diagnostic paradigm for evaluation of male patients with chronic granulomatous disease, based on the dihydrorhodamine 123 assay. J Allergy Clin Immunol. 111(2):374-379, 2003.
 9. Richardson, M.P., Ayliffe, M.J., Helbert, M., Davies, E.G. A simple flow cytometry assay using dihydrorhodamine for the measurement of the neutrophil respiratory burst in whole blood: comparison with the quantitative nitrobluetetrazolium test. J Immunol Methods. 219(1-2):187-193, 1998.
 10. Crow, J.P. Dichlorodihydrofluorescein and dihydrorhodamine 123 are sensitive indicators of peroxynitrite in vitro: implications for intracellular measurement of reactive nitrogen and oxygen species. Nitric Oxide. 1(2):145-157, 1997.
 11. van Pelt, L.J., van Zwieten, R., Weening, R.S., Roos, D., Verhoeven, A.J., Bolscher, B.G. Limitations on the use of dihydrorhodamine 123 for flow cytometric analysis of the neutrophil respiratory burst. J Immunol Methods. 191(2):187-196, 1996.
 12. Roesler, J., Hecht, M., Freiherst, J., Lohmann-Matthes, M.L., Emmendörffer, A. Diagnosis of chronic granulomatous disease and of its mode of inheritance by dihydrorhodamine 123 and flow microcytofluorometry. Eur J Pediatr. 150(3):161-165, 1991.
 13. Bennett, M.K., Kirk, C.J. Development of proteasome inhibitors in oncology and autoimmune diseases. Curr Opin Drug Discov Devel. 11: 616-625, 2008.
 14. Ryan, J.G., Kastner, D.L. Fevers, genes, and innate immunity. Curr Top Microbiol Immunol. 321: 169-184, 2008.
 15. Gelderman, K.A., Hultqvist, M., Pizzolla, A., Zhao, M., Nandakumar, K.S., Mattsson, R., Holmdahl, R. Macrophages suppress T cell responses and arthritis development in mice by producing reactive oxygen species. J Clin Invest. 117(10):3020-3028, 2007.
 16. Gelderman, K.A., Hultqvist, M., Olsson, L.M., Bauer, K., Pizzolla, A., Olofsson, P., Holmdahl, R. Rheumatoid arthritis: the role of reactive oxygen species in disease development and therapeutic strategies. Antioxid Redox Signal. 9(10):1541-1567, 2007.
 17. Hultqvist, M., Bäcklund, J., Bauer, K., Gelderman, K.A., Holmdahl, R. Lack of reactive oxygen species breaks T cell tolerance to collagen type II and allows development of arthritis in mice. J Immunol. 179(3):1431-1437, 2007.
 18. Hultqvist, M., Olofsson, P., Gelderman, K.A., Holmberg, J., Holmdahl, R. A new arthritis therapy with oxidative burst inducers. PLoS Med. 3(9):e348, 2006.
 19. Hultqvist, M., Holmdahl, R. Ncf1 (p47phox) polymorphism determines oxidative burst and the severity of arthritis in rats and mice. Cell Immunol. 233(2):97-101, 2005.
 20. 하지용, 이 준. 加減理中湯의 BALB/c 마우스의 抗癌 및 免疫調節作用에 미치는 影響. 加減理中湯의 BALB/c 마우스의 抗癌 및 免疫調節作用에 미치는 影響. 동의병리학회지 12(2):73-81, 1998.