

# 고려인삼의 면역조절 효과

## Immunomodulatory Activity of Korean Ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer)

곽 이 성

Yi-Seong Kwak

한국인삼공사 R&D본부

R&D Headquarters, KGC, Daejeon 305-805, Korea

### 1. 서론

고려인삼은 오가과(Araliaceae) 인삼속(*Panax*)에 속하는 식물로 종속으로는 *Panax ginseng* C.A. Meyer에 속한다. 인삼의 뿌리인 수삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)을 표피를 벗기지 않은 채로 세삼(洗蔘) 후 특별한 증숙 건조(蒸熟·乾燥) 가공 공정 등을 거쳐 제조된 식물이며 담황갈색 또는 담적갈색의 색상을 띤다. 고려홍삼의 제조역사는 역사적 기록으로 보아 약 1000년 이상의 오랜 제조역사를 가지고 있다.(중국 송나라의 서경(徐競)이 저술한 고려도경에 속삼, 즉 홍삼에 대한 기록이 있음). 1606년(宣祖 39년)때까지는 주로 민간인들에 의해 파삼(把蔘: 오늘날의 홍삼)이 제조되어 왔으나, 오늘날의 홍삼과 같이 국가 차원에서 본격 제조된 것은 1908년(융희 2년) 홍삼전매법 제정 및 공포이후부터이다.

인삼의 화학성분 함량은 일반적으로 사포닌이 3~6%(프로토파낙사다이올계 24종, 프로토파낙사트리올계 사포닌 11종, 올레이놀린산계 사포닌 1종), 합

질소화합물이 12~16%(단백질, 아미노산, 펩타이드, 핵산, 알칼로이드), 지용성 성분 1~2%(지질, 지방산, 정유성분, 테르페노이드, 폴리아세틸렌 페놀화합물 등), 비타민 0.05%, 탄수화물 60~70%, 회분 4~6% 등으로 이루어져 있다. 세계적으로 인삼속의 식물종(種)은 6~7종 알려지고 있으나 경제적으로 재배되어 세계시장에서 상품으로 유통되고 있는 인삼(*ginseng* species)은 크게 3가지 종류가 있다. 지리적으로 한국을 비롯한 중국 등 아시아 극동 지역에 분포, 재배되고 있는 *Panax ginseng* C.A Meyer 라는 식물명을 가진 고려인삼종과 미국과 캐나다에서 재배되고 있는 미국삼 (*Panax quinquefolium* L), 및 중국남부의 운남성, 광서성에서 생산되고 있는 전칠삼 (*Panax notoginseng*)이 있다. 미국삼이나 전칠삼은 고려인삼과는 다른 식물종으로 일반적으로 인삼이라고 하며 *Panax ginseng* C.A. Meyer 만을 지칭한다. 따라서 오랜 기능성원료로서의 역사를 가지고 있고 오늘날까지도 가장 중요한 전통소재로 인정받고 있는 진정한 인삼은 고려인삼종이다. 역사적으로 한국이 세계에 “고려(高

Corresponding author: Yi-Seong Kwak  
R&D headquarters, KGC, You-Seong Ku,  
Daejeon, Korea  
Tel: 82-42-870-3071  
Fax: 82-42-870-3142  
e-mail: twostar@kgc.or.kr

麗, Korea)”로 알려지게 됨으로써 한국에서 재배 생산되고 있는 인삼이 고려인삼 Korean Ginseng이라고 불리어지게 되었다. 고려인삼은 우리나라의 산지 특성을 부각시킨 세계적 상품명으로 오늘날에는 인삼의 대명사처럼 불리어지기도 한다. 한편 근래에는 고려인삼의 명성을 모방하여 인삼과 전혀 다른 식물종인데도 인삼이란 명칭을 붙여 제품으로 판매되고 있는 것도 있어 소비자들이 인삼제품으로 오인하는 경우가 많다. 그예가 가시오가피(*Eleutherococcus senticosus*)를 시베리아인삼 (Siberian ginseng)으로 *Pfaffia paniculata*를 브라질인삼 (Brazilian ginseng)으로 부르는 것 등이다.

세계시장은 자유무역주의의 확대, 건강에 대한 관심의 증대로 인삼(홍삼)에 대한 수요는 더욱 커지고 있으며, 수출기회 역시 많아지고 있다. 그러나 외적으로는 중국의 저가 물량공세와 미국, 캐나다의 선진기술 등으로 어려운 경쟁을 하고 있으며, 내적으로는 높은 생산비, 노동력 부족, 재배지 감소 등으로 국내 환경도 위기 상황에 처해 있다. 또한 1996년 7월 1일 홍삼전매법 폐지에 따라 홍삼제조업체들이 우후죽순으로 많아져, 국내 업체끼리의 경쟁으로 수익성은 더욱 악화되고 있는 추세이다. 세계시장에서 국내 인삼은 중국산, 캐나다산, 미국산 인삼의 가격경력이 떨어져 수출이 쉽지 않은 반면에 인삼을 가공한 제품들은 미국, 유럽등 서양인들을 대상으로 꾸준히 수출이 늘어가고 있어 인삼(홍삼)을 가공하여 고부가가치로 연계되는 상품 개발에 필요성이 더욱 증대되고 있다.

최근 사스(SARS) 때문에 면역기능증진 관련 식품에 대한 관심이 더욱 증대되었으며, 현대인들의 평균 수명이 늘고 이전보다 심각한 병을 가진 채 장기간 생존하는 사람들이 많아지면서 면역력 저하 인구가 급증하고 있다.

생체는 면역기능에 의하여 자신을 보호하는데, 면역시스템은 자기성분(self)과 비자기성분(Non-self)을 식별하여 비자기 성분을 제거하는 기능을 가지며, 생체를 구성하는 다양한 세포가 조화 있게 생존할 수 있도록 항상성을 유지하는데 있다. 그러나 스트레스, 화학물질 노출, 알코올 섭취 등의 요인으로 인해 생체의 항상성의 부조화가 발생하게 되면 면역기능이 깨지게

되어 각종 질병이 발생하게 된다. 면역계란 원래 생체 내에 갖추어져 있고 면역기능을 활성화함으로써 각종 질병을 예방하는 기능을 가지고 있다. 면역증진기능은 다른 어떤 기능분야보다도 영양상태에 영향을 많이 받는다. 식생활이 서구화됨에 따라 면역기능증진에 대한 관심과 필요성이 연령·성별 구분 없이 증대되고 있는 것이다.

일찍이 러시아의 약리학자인 브레크만은 인삼이 외적 유해인자에 대한 비특이적인 생체 저항력을 증진시켜 주며, 물리적, 화학적, 생물학적인 외적 변화에 대해 생체를 정상화(homeostasis)시켜 주는 이른바 “adaptogen”으로서 작용한다고 제창하였으며 (Brekhman 1969) 근래, 인삼 및 홍삼의 추출물(분획물)을 비롯한 사포닌 및 다당체 성분에 대한 여러 가지 면역기능 유효성이 점차 증대되고 있다. 인삼(홍삼)의 효능은 특히 인체의 면역기능에 유효하게 작용하는데, 저하된 면역기능을 항진시켜서 각 기관의 평형을 유지함으로써 생체의 건강을 지킬 수 있는 인삼(홍삼)의 적응소 활성화는 실제로 여러 가지 실험모델을 통하여 그 효과가 확인되고 있다. 최근에 사포닌 이외의 비사포닌 성분에 대한 연구가 활발하며, 비사포닌 성분의 대표적 성분인 인삼다당체 연구는 Konno 등이 인삼의 여러부위에서 수종의 다당체 성분인 ginsenan을 분리하여 면역관련 실험을 진행하고, 일부 그 구조를 밝히면서부터 본격적으로 시작되었다. Konno 등에 의하면 인삼의 다른부위보다 인삼동체(뿌리)에서 분리한 다당체가 세망내피계를 활성화시키고 항보체활성을 갖는다고 보고한 바 있다. 인삼 (*Panax ginseng* C.A. Meyer)으로부터 분리한 다당체성분은 항암작용을 비롯한 다양한 면역조절 작용이 보고되고 있다. 다당체는 일반적으로 중성다당체 및 산성다당체로 나뉘어지는데, 산성다당체는 galacturonic acid, glucuronic acid, mannuronic acid 등의 산성당이 다량 함유된 분자량 10,000~15,000 이상의 다당체를 말하며 중성다당체에 비해 면역체계에 미치는 영향이 크다고 알려져 있다. 인삼 중 백삼으로부터는 백삼물추출물로부터 분리된 ginsan이 Th1 세포와 macrophage 유래의 cytokine을 유도하여 killer cell을 활성화시킴으로써 암세포를 사멸시킬 수 있음이 보고된 바 있다. 또한 백

삼으로부터 저혈당작용을 갖는 다당체 21종 (Panaxan A-U)이 분리된 바 있다. 홍삼으로부터는 홍삼산성 다당체 (RGAP, red ginseng acidic polysaccharide)가 분리되었으며 RGAP를 이용한 항암활성 실험결과 이들이 macrophage 및 natural killer cell을 활성화시켜 항암작용을 나타내는 등 면역증가 효능이 있다고 연속적으로 보고되고 있다.

한편 홍삼은 수삼을 증숙하여 건조한 것으로 이러한 수처리과정 중에 수삼 또는 백삼과 다른 성분이 생성된다고 알려져 있다. 홍삼은 사포닌 ginsenoside의 C-20 위치의 glycosyl 잔기가 이탈하거나, C-20 위치의 수산기가 이성화되어 20(S)-ginsenoside Rg<sub>3</sub>, 20(R)-ginsenoside Rg<sub>2</sub>, 20(S)-ginsenoside Rh<sub>2</sub>, 20(R)-ginsenoside Rh<sub>1</sub> 등의 미량 사포닌 및 maltol 등의 성분이 수삼, 백삼에 비해 다량 생성된다. 따라서 수삼 및 백삼과 다른 홍삼의 생리활성 차이는 홍삼제조 과정 중 발생하는 화학성분의 차이 때문으로 생각된다. 다당체의 경우도 백삼에서 분리된 다당체와 홍삼에서 분리된 다당체는 그 화학적 성상이 다르다. 백삼의 면역증강작용을 갖는 다당체 ginsan은 산성당의 함량이 43.1% 이었고 중성당의 조성은 glucose, galctose인데 반해, 홍삼산성다당체 RGAP<sup>11)</sup>는 산성당의 함량이 56.9%, 중성당의 조성은 glucose, arabinose, rhamnose, galactose로 구성된 heteroglycan 이었다. Park 등은 RGAP를 종양이 이식된 마우스의 복강에 투여시 macrophage에 의한 NO 생성촉진 및 NK 세포의 활성화 등에 의해 면역반응이 증대되었다고 보고하였다.

본 내용에서는 인삼사포닌 및 인삼다당체를 포함한 고려인삼성분들의 면역조절 효과에 대해서 최근의 연구동향을 소개하고자 한다.

## II. 본 론

### 1. 고려인삼 주요성분

고려인삼의 대표적 성분으로는 사포닌성분 (ginsenoside)과 비사포닌 성분으로 나눌수 있으며 비사포닌성분으로 산성다당체를 들수 있다.

○ 사포닌(Saponins): 고려인삼의 주된 약리효능

을 나타내는 성분인 saponin은 지금까지 가장 많은 연구들이 수행되어져 왔다. 사포닌(saponin)은 화학적으로 배당체(glycoside)로 화합물의 일종이며 어원(語源)은 거품을 내는 성질이 있어 sapo(비누)에서 유래되었다. 사포닌은 화학적으로는 리베르만부차드 반응(Libermann-Buchard)에 의해 적색으로 발색되고, 비당부(sapogenin, aglycone)에 당류가 결합된 배당체이다. 사포닌은 aglycone의 골격구조에 따라 triterpenoid계(系)사포닌과 steroid계(系)사포닌 2가지로 크게 분류되며 고려인삼의 사포닌은 triterpenoid계(系)의 dammarane계(系)사포닌으로 인삼(panax)속 식물에만 존재하는 특유의 사포닌으로 약성이 매우 온화하고 과량 투여에 의한 독성이 없을 뿐만 아니라 용혈 작용이 거의 없는 것으로 밝혀져 있으며, 고려인삼의 사포닌은 비당부분에 붙어 있는 -OH의 수에 따라 2개인(3, 12번 위치) 경우 protopanaxadiol계 사포닌(PPD), 3개인(3, 6, 12번 위치) 경우 protopanaxatriol계 사포닌(PPT)로 구분되며, protopanaxadiol과 protopanaxatriol의 R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> 및 R<sub>3</sub> 위치의 -OH에 glucose rhamnose, xylose, arabinose와 같은 당류가 에테르 결합되어 인삼 사포닌을 구성하고 있다 (Fig. 1). 고려인삼의 홍삼에는 ginsenoside가 32종, 백삼 22종, 미국삼 13종, 중국 전칠삼에는 14종의 ginsenoside가 보고되고 있다. 이와 같이 인삼종 식물 중에서 지금까지 고려인삼으로부터 분리한 ginsenoside가 미국삼이나 전칠삼보다 2배 이상 많은 종류의 ginsenoside를 함유하고 있다.

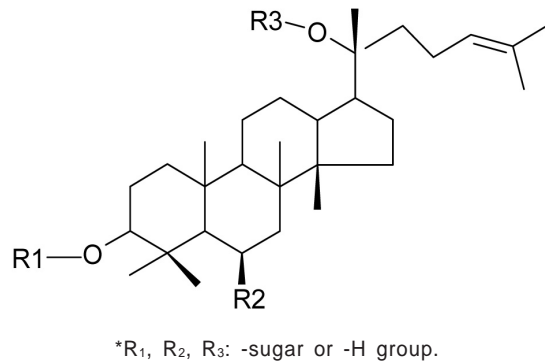


Fig.1. 고려인삼 사포닌의 구조

○ **다당체 성분(Polysaccharides):** 인삼의 다당류에는 수종의 면역활성, 항종양활성, 혈당강하활성, 항퀘양작용등의 활성이 보고되고 있다. Hikino 등은 고려인삼으로부터 혈당강하 효능을 나타내는 다당류 panaxan A, B, C, D 및 E를 최초로 분리하였고, 그 후 계속해서 연구가 추진되어 총21종의 panaxan을 분리하였다. 주요 구성당은 다당체 종류에 따라 차이가

있으나 glucose, arabinose, galactose, xylose, rhamnose등으로 구성되어 있으며, Tomoda 등은 panaxan A를 부분구조에 대해 검토하였는데 분자량은 14,000으로 92.1%의 glucose함량에 histidine, leucine, alanine, tryptophan, glycine, asparaginic acid, threonine 등을 1.7% 함유하는 peptide로 구성되어 있으며, panaxan B는 glucose 95.9%, peptide 0.7%로

Table 1. 고려인삼 뿌리에서 분리된 다당체

Compound	M. W.	Molar ratio of neutral sugar	acidic sugar	Author
Panaxan				
A	14,000	glc	-	Tomoda et al.,1984
B	1,800,000	glc	-	Tomoda et al.,1985
C	ND	glc	-	Konno et al.,1984
D	ND	glc	-	Konno et al.,1984
E	ND	glc	-	Konno et al.,1984
F	16,000	ara:gal:glc:rha(7:10:11:1)	-	Hikino et al.,1985
G	6,600	ara:gal:glc(10:10:12)	-	Hikino et al.,1985
H	110,000	ara:gal:rha(7:10:1)	-	Hikino et al.,1985
I	74,000	ara:gal(8:10)	galA:glcA(5:10)	Oshima et al.,1985
J	37,000	glc	-	Oshima et al.,1985
K	1,300,000	ara:gal:rha(16:10:2)	-	Oshima et al.,1985
L	80,000	ara:gal(30:10)	galA:glcA(13:10)	Oshima et al.,1985
M	90,000	ara:gal:glc:rha:xyl(19:10:1:3:1)	galA:glcA(39:10)	Konno and Hikino,1987
N	2,900	gal:glc(10:182)	glc A	Konno and Hikino,1987
O	9,300	ara:gal:glc:rha:xyl(6:10:2:1:2)	galA	Konno and Hikino,1987
P	2,500	ara:gal:glc:rha(15:10:12:19)	manA	Konno and Hikino,1987
Q	84,000	gal:glc:man:rha(10:8:6:1)	-	Konno et al.,1985
R	170,000	gal:glc:rha(10:22:6)	galA:glcA:manA (12:10:9)	Konno et al.,1985
S	3,000		ara:gal:glc(10:10:9)	Konno et al.,1985
T	11,000	ara:gal(2:10)	galA	Konno et al.,1985
U	2,500	gal:glc(10:262)	-	Konno et al.,1985
Ginsanan				
PA	160,000	ara:gal:rha(11:22:1)	galA:glcA(6:1)	Tomoda et al.,1993a
PB	55,000	ara:gal:rha(3:7:2)	galA:glcA(8:1)	Tomoda et al.,1993a
S-IA	56,000	ara:gal(8:8)	galA(1)	Tomoda et al.,1993b
S-IIA	100,000	ara:gal:glc(15:10:2)	galA(5)	Tomoda et al.,1993b
Ginsan	150,000	gal-glu(47.1%)	galA(43.1%)	Yun et al.,1998

주) ara, L-arabinose; gal, D-galactose; glc, D-glucose; man, D-mannose; rha, L-rhamnose; xyl, D-xylose; galA, D-galacturonic acid; glcA, D-glucuronic acid; manA, D-mannuronic acid; ND, no data

분자량이 1,800,000인 peptidoglycan의 화학구조를 밝혔다. 이러한 산성다당체 성분의 함량분포는 백삼보다는 홍삼에서, 미삼 보다는 동체에서 높다고 보고하였다. Han 등은 수삼, 백삼, 홍삼중의 산성다당체 함량을 비교한 결과 홍삼에 수삼, 백삼보다 3배정도 함량이 많으며, 부위별로는 주근 및 뇌두에서 가장 높은 함량을 나타낸다고 보고하였다.

## 2. 고려인삼의 면역기능 조절활성

### ○ 인삼은 자연살해세포(NK cell)의 활성화 및 인터페론 생성을 촉진하는 효과가 있다.

자연살해세포(natural killer cell: NK cell)는 생체에서 항원에 대한 사전 감각없이 바이러스에 감염된 세포 혹은 종양세포 등을 파괴하는 능력이 있다. 자연살해세포의 활성화는 많은 요인에 의해 변화되는데, 인터페론(Interferon), 인터페론 유도물질과 인터루킨-2(Interleukin-2)등은 NK 세포의 살해능을 증가시키는 효과가 있는 것으로 알려지고 있다.

홍삼(6년근)으로부터 분리한 총사포닌과 PD 및 PT계 사포닌은 시험관 시험에서 NK세포의 활성도를 증가시키는 효과가 있다. 인삼 추출물은 사람 말초 혈액 임파세포를 이용한 실험에서 임파세포의 증식 촉진작용과 NK세포와 ADCC(antibody dependent cytotoxic)의 활성화 증가효과 및 인터페론 생산을 증가시키는 효과가 있음이 보고되어 있다. 동물 및 시험관 시험결과, 인삼 추출물은 비장 세포의 NK세포 활성화를 촉진하고 특히 인테페론 유도물질(6-MFA)과 병용시 면역 인터페론 생성을 현저히 촉진시킨다는 보고가 있다. 마우스(B6C3F<sub>1</sub>)에 고려홍삼의 70% 에탄올 추출물을 투여(50,100mg/kg, 복강투여)한 결과, 자연살해세포(NK cell)의 활성을 증가시켰고, 항암제인 cyclophosphamide 처리로 유도된 면역기능저하 마우스에서 NK세포기능의 회복을 촉진하는 효과가 있고, *Listeria monocytogenes*(수막염 뇌척수염 등을 일으키는 세균)감염에 대한 방어효과를 나타내었다. 고려인삼(6년근)의 추출물(에탄올 불용성 분획물)은 배양 비장세포(splenocytes)의 증식 유도과 비장(蘇臟)세포로부터 인터루킨-2(IL-2)의 생성촉진 및 자연살해세포

의 활성화를 유도하였다. 또한 이들 분획물은 신생마우스에 벤조파이렌(B(a)P)투여로 유도되는 폐선종 발생도 억제하였다. 최근 종양세포를 이식한 마우스 실험에서 홍삼추출물 투여는 비장(蘇臟)세포의 T 림프구의 helper T cell/suppressor T cell 비와 NK세포의 활성도를 증가시키는 효과가 있음이 관찰되었다.

고려인삼의 주요 사포닌성분인 G-Rg<sub>1</sub>은 비장의 용혈반 형성세포(Plaque-forming cell)의 수와 T-cell의 수적 증가와 비장세포의 자연살해세포의 활성화 증가 및 전 T-cell에 수에 대한 T-helper cell 수의 비율을 증가시키는 효과가 있다. 또한 G-Rg<sub>1</sub>은 배양홍삼세포의 유사분열 촉진효과를 발현하고, 대식세포의 인터루킨-1(IL-1)의 생산 증가를 유도하였으며, 특히 항암제인 cyclophosphamide 처리에 의한 손상된 체액성(humoral) 및 세포성 면역반응(cell-mediated immune response)을 부분적으로 회복시키는 효과가 있음이 보고된다.

### ○ 홍삼 추출물은 망내계 대식세포 활성화 작용과 항체 생성에 유효한 영향을 미친다.

외부에서 들어오는 이물질(異物質)은 주로 간장과 비장의 대식세포가 탐식(貪食)작용을 하며, 이러한 대식세포(macrophage)는 조직에서 network을 형성하고 있는데 이를 세망내피계(reticuloendothelial system)이라 한다. 이는 외부에서 침입하는 이물질을 제거하여 숙주의 저항력을 유지시키는 비특이적인 면역반응을 담당하고 있다. 고려인삼추출물은 외부로부터 침입하는 이물질(異物質)을 제거하여 숙주의 비특이적인 면역반응을 담당하고 있는 망내계(網內系)의 주요 장기인 간, 비장의 대식세포(macrophage)를 활성화하여 망내계의 탐식능을 향진시키고, 대식세포와 백혈구의 유주저지인자에 대한 감응도를 향진시키며 항체 생성에도 유효한 영향을 미친다. 홍삼의 조사포닌과 비사포닌 분획물을 실험동물(마우스)에 투여한 결과, 비장 세포의 용혈반 형성세포의 수를 지표로 측정 한 항체 생성이 유의하게 증가되었고, 특히 비사포닌 분획의 효과가 강하게 나타났다. 시험관 시험으로 건강인의 말초 혈액으로부터 분리한 단핵세포를 이용한 시험에서도 IgM형 및 IgG형의 항체생성이 증가되었

다. 인삼분획물의 항체생산 증강작용 기전의 하나로서 항체생성에 중요한 역할을 하는 대식세포(macrophage)로부터 생성되는 인터루킨-1(IL-1)의 생성기능 향진에 의한 것으로 추측되고 있다.

또한 인삼의 수용성 추출물로부터 분리한 다당체 성분(ginsenan A, ginsenan B)은 망내계의 대식세포활성 즉 외부로부터 들어오는 미생물이나 다른 세포 또는 이물질을 잡아먹는 세포의 활성을 증가시키는 효능이 있다.

### ○ 인삼 중에는 배양임파세포의 유사분열을 촉진 또는 억제하는 성분이 있어 면역조절 작용을 한다.

사람의 말초 혈액이나 림프계 기관으로부터 분리한 임파구는 그대로 배양하면 거의 분열하지 않는다. 그러나 적당한 분열촉진 인자(mitogen)의 존재하에서 배양하면 DNA 합성과 세포증식을 일으킨다. 인삼사포닌은 mitogen에 의해 일어나는 T 및 B 임파구세포의 유사분열을 촉진시키며, 용혈반 형성세포의 탐식활성 증가와 NK cell-Interferon-Inherlukin-2 조절계에도 중요한 역할을 한다. 또한 인삼사포닌은 수술 스트레스를 받은 마우스에게 NK cell의 활성을 저하시키고 ADCC의 세포 독성의 억제에 길항적인 효과를 발현한다. 사람의 배양 임파세포의 유사분열에 미치는 인삼사포닌 성분인 G-Rg<sub>1</sub> 과 Rb<sub>1</sub>의 효과를 조사한 결과, G-Rg<sub>1</sub>은 mitogen으로 작용하는 PHA 또는 Con A에 의해 활성화된 임파구세포의 유사분열을 촉진하는 효과가 있고, 활성화된 임파구세포의 DNA 합성을 촉진하였다. 그러나 Rb<sub>1</sub>은 활성화된 사람 임파구세포의 유사분열을 억제하는 효과를 보여, Rg<sub>1</sub> 과 Rb<sub>1</sub>은 활성화된 사람 임파구 세포의 유사분열에 서로 상반된 작용을 나타낸다는 연구결과도 보고되고 있다.

한편 G-Rg<sub>1</sub>은 자가면역 질환의 동물모델(몰릿트를 이용한 실험적 알레르기 뇌척수염증 모델)을 이용한 실험에서 뇌척수염의 임상증상을 유의하게 억제하는 효과가 관찰되어 자가면역 질환에 대한 유용성이 기대되고 있다.

### ○ 인삼은 항암제에 의한 저하된 면역기능을

### 증진시키는 효능이 있다.

항암제에는 암세포는 물론 정상세포에도 세포독성을 가지고 있으며, 항암제의 주요 부작용 중의 하나는 심한 면역 억제작용이다. 따라서 항암제는 임상적 응용에 제한을 받게 되므로 저하된 면역기능을 증진시키는 면역요법이 매우 중요시되고 있다. 동물시험 결과 인삼 에탄올 추출물, 부탄올분획물 및 에테르 추출물은 골수독성과 신장장해 및 면역독성을 가진 항암제인 mitomycin C 투여로 저하된 체액성 및 세포성 면역반응을 부활시키는 작용이 있고, 특히 에테르 추출물은 체액성 및 세포성면역 NK cell의 활성을 현저히 부활 내지 증강시키는 효과가 있음이 보고되었다.

또한 홍삼사포닌 분획과 항암제인 adriamycin 및 vincristine을 병용투여시 이들 항암제 투여로 야기되는 복강 대식세포의 종양세포(Sarcoma-180 cell)살해능의 억제를 회복시켜 주는 효과가 관찰되었다.

고려인삼의 사포닌 성분(G-Rh<sub>2</sub>)과 다당체성분 등은 화학적 항암요법제(cisplatin, mitomycin C, cyclophosphamide 등)의 주요 부작용 중의 하나인 면역기능의 손상을 회복시키는 효능이 있음이 보고되고 있다. 고려인삼의 사포닌 성분(G-Rh<sub>2</sub>)과 다당체성분 등은 화학적 항암요법제(cisplatin, mitomycin C, cyclophosphamide 등)의 주요 부작용 중의 하나인 면역기능의 손상을 회복시키는 효능이 있음이 보고되고 있다. 신체적 또는 심리적 스트레스는 면역기능을 억제하며, 고려홍삼의 투여(랫드사료 0.2-1% 첨가 8주간 투여)는 전기충격 스트레스(food shock)를 가해 유도되는 비장세포의 임파구 유약화 반응의 억제와 자연살해세포의 활성 저하 등 저하된 면역기능을 개선시키는 효과가 관찰되어 고려인삼의 장기 투여는 스트레스로 유발되는 면역억제를 해소시키는 효과가 있음이 시사되었다. 실험동물(랫드, 마우스)에 저온 스트레스(4℃ 냉수로 부하)를 가하면 비장 림프세포의 적응 억제, 체액성 면역반응 및 복강대식세포의 탐식기능의 저하가 야기되는데 인삼사포닌 분획이 G-Rb<sub>1</sub> 투여는 이러한 면역기능의 억제를 방어하는 효과를 나타낸다.

한편 독소물질인 LPS(lipopysaccharide)를 BALB/c mouse에 투여하면 면역기능 담당 장기인 흉

선의 중량 감소와 흥선의 세포사(死)인 apoptosis가 일어난다. 이러한 실험모델을 이용하여, LPS에 의하여 유도되는 흥선세포의 apoptosis에 대한 고려홍삼 추출물의 효과를 흥선의 중량과 세포 생존률, DNA 절편화, 형태학적 변화 그리고 Bax 단백질(세포사를 촉진하는 단백질의 일종)의 발현 등을 지표로 조사하였다. 그 결과 LPS 처리 1시간 전 인삼추출물(GS)을 처리함으로써 흥선의 중량, 흥선 세포의 생존률이 증가하고 LPS에 의한 흥선 apoptosis가 억제되었다. 면역염색 결과, LPS에 의하여 유도되는 Bax 단백질의 과도한 발현이 감소되었다.

인삼(홍삼)의 면역증진의 기능성은 인삼(홍삼)성분 중 사포닌 뿐만 아니라 다당체에 의해서도 효과가 있다고 많은 연구가 보고되고 있다. 진세노사이드 뿐만 아니라 산성다당체 성분을 활용한 동물실험결과 생체의 면역력을 증진시킨다는 다수의 연구결과가 보고된 바 있다. 인삼성분 중에는 암세포의 증식억제 및 형태적 정상세포로 유도하는 활성성분 등이 함유되어 있고, 암세포의 전이와 항암제의 내성형성을 억제하는 활성성분이 있다는 다양한 실험결과가 속속 밝혀지고 있다. Brekhman은 인삼이 외적 유해인자에 대한 비특이적 생체저항력을 증진시켜 물리적, 화학적, 생물학적 외적변화에 대해 생체를 정상화시켜 주는 이른바 “adaptogen” 설을 제창하였는데, 최근 인삼의 추출물을 비롯한 사포닌, 다당체성분에 대한 여러 면역기능 지표의 변화를 조사한 결과 인삼의 유효성이 점차 밝혀지고 있다. 한편 인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)의 면역작용에 관해서는 사포닌 및 다당체를 중심으로 면역조절 작용에 관해 연구가 이루어져 왔다. 그 중 인삼산성다당체는 galacturonic acid, glucuronic acid 및 mannuronic acid가 결합된 분자량이 15,000 이상의 다당체이며 중성다당체에 비해 면역체계에 미치는 영향이 크다. 또한 백삼의 물추출물에서 분리된 다당체 ginsan은 Th1 세포와 macrophage 유래의 cytokine을 유도하여 killer cell을 활성화시킴으로써 암세포를 사멸시킬 수 있음이 보고된 바 있다. 홍삼으로부터도 분리한 홍삼산성다당체(RGAP, red ginseng acidic polysaccharide)가 *in vitro* 및 *in vivo* 실험에서 macrophage를 증가시켜

nitric oxide synthase를 활성화시킴으로써 면역증강 효과를 나타낸다고 보고한 바 있다. 또한 홍삼산성다당체의 면역증진효과는 NK cell(자연 살해 세포)의 활성화 및 인터페론 생성을 촉진함으로써 발생한다고 보고하였다.

산성다당체 (RGAP)는 고형암(Sarcoma-180) 종양 세포가 이식된 마우스에서 대식세포(macrophage)를 증가시켜 일산화질소생성효소 (nitric oxide synthase)를 유도하여 세균 및 외래항원 살해인자인 NO(nitric oxide) 생성을 증가시킴으로써 우수한 면역조절 작용을 나타낸다. 또한 암세포가 이식된 마우스에 투여한 결과 대식세포 및 자연살해세포(natural killer cell)의 활성화에 의해 현저하게 종양생성이 억제되었고, 우수한 수명연장(life span) 효과도 나타났다. 급?만성 백혈병 및 여러 고형암에 사용되는 항암제 CY (Cyclophosphamide) 및 유방암, 대장암, 위암, 췌장암 등에 사용되는 항암제 5-Fu(5-Fluorouracil)과 병용투여시 고형암(Sarcoma-180) 및 폐종양(LL/2 lung carcinoma)에 대해서 저용량 항암제의 사용으로 고용량의 항암제 상용에서의 유사한 항암효과를 나타내어 면역증진 극대화시킨다.

### 3. 인삼 다당체의 면역증진 동물실험

일찍이 러시아의 약리학자인 브레크만은 인삼이 외적 유해인자에 대한 비특이적인 생체 저항력을 증진시켜 주며 물리적, 화학적, 생물학적인 외적 변화에 대해 생체를 정상화시켜 주는 이른바 “adaptogen”으로서 작용한다고 제창하였다. 이는 인삼이 면역기능을 향진시키는 작용이 있음을 시사하는 것이다. 홍삼산성다당체RGAP의 면역증강 작용을 다음의 동물시험을 통해 검증하였다.

외부로부터 침입하는 이물질(異物質)을 제거하여 숙주의 비특이적인 면역반응을 담당하고 있는 망내계(網內系)의 주요 장기인 간, 비장의 대식세포(macrophage)를 활성화하여 망내계의 탐식능을 향진시키고, 대식세포와 백혈구의 유주저지인자에 대한 감응도를 향진시키며 항체 생성에도 유효한 영향을 미친다. 동물시험 결과, 비장 세포의 용혈반 형성이 유의하게 증가되었

다. 홍삼산성다당체의 항체 생산 증강작용 기전의 하나로서 항체생성에 중요한 역할을 하는 대식세포 (macrophage)를 증가시켰다. 홍삼산성다당체RGAP는 망내계의 대식세포활성 즉 외부로부터 들어오는 미생물이나 다른 세포 또는 이물질을 잡아먹는 세포의 활성을 증가시키는 작용이 있다.

### ○ Nitric Oxide is Involved in the Immunomodulating Activities of Acidic Polysaccharide from Panax ginseng

#### (1) 연구목적

홍삼산성다당체RGAP의 이화학적 특성을 알아보기 위해 당조성을 분석하였고, 동물시험을 통해 홍삼산성다당체RGAP에 의한 Macrophage의 NO생성 증가와 면역증강작용을 확인하였다.

#### (2) 연구방법

##### 1) 시험동물

SPF female BALB/c mice

##### 2) 시료

사포닌등 비수용성 물질을 제거한 후 남은 잔사를 추출한 수용성 추출물에 EtOH로 침전시킨 후 홍삼산성다당체RGAP를 제조함.

##### 3) Macrophage와 NO 생성

7일간 복강투여 후 복강세포 분리

##### 4) 통계분석

실험결과는 평균±표준편차로 나타내었으며, 처리에 의한 결과의 유의성 검정은 Scheffe's test로 분석하였다.

#### (3) 연구결과

##### 1) Macrophage 수 증가

홍삼산성다당체 RGAP를 투여한 BALB/c mice 로부터 분리된 macrophage의 수는 대조군에 비하여 유의적으로 증가되었으며, 농도 의존적으로 증가하였다.

##### 2) NO 생성

BALB/c mice에 홍삼산성다당체RGAP를 복강투여한 후 분리한 복강 macrophage에서 NO생성을 측정한 결과 대조군에 비하여 유의적으로 증가되었으며, 농도 의존적으로 증가하였다.

NO 생성에 있어 IFN- $\gamma$ 의 영향을 알아보기 위하여

IFN- $\gamma$ 를 함께 처리한 경우와 그렇지 않은 경우 NO생성을 비교하였다. 그 결과 IFN- $\gamma$ 를 함께 처리한 경우 NO의 생성이 증가하였다. transcription, translation 및 iNOS 저해제인 ATD, CHX, NMMA를 처리한 경우 홍삼산성다당체 RGAP에 의한 NO생성은 완전히 차단되었다.

##### 3) 홍삼산성다당체RGAP에 의한 비장세포 내 면역세포들의 구성 변화

홍삼산성다당체RGAP를 7일간 투여 후 비장세포를 분리해낸 후 flow cytometry를 이용하여 면역세포 구성을 확인하였다.

그 결과 CD3+CD4+와 CD3+CD8+ T lymphocytes는 홍삼산성다당체RGAP군에서 감소하였고, CD45R/B220+ B lymphocyte는 약간 감소하였다. 반면 granulocyte, dendritic cell, natural killer cell과 macrophage를 포함하는 CD11b+ cell은 홍삼산성다당체RGAP 투여군에서 증가함을 볼 수 있었다.

##### 4) AFC(antibody forming cell)와 sRBC의 반응에 있어서 홍삼산성다당체RGAP의 영향

BALB/c mice에 saline 투여군인 대조군, 홍삼산성다당체RGAP 단독투여군(100mg/kg, 300mg/kg), NOS 저해제인 aminoguanidine 투여군(100mg/kg), 홍삼산성다당체RGAP(100mg/kg, 300mg/kg)와 amino guanidine 투여군(100mg/kg)으로 나뉘어 7일간 투여되었다. assay를 하기 4일전 sRBC로 감작한 뒤 7일째 되는 날 비장을 적출하여 Jerne plaque assay를 하였다.

그 결과, 비장의 무게는 대조군에 비하여 홍삼산성다당체RGAP 단독투여군에서 유의적으로 증가하였고, 홍삼산성다당체RGAP량에 의존하여 비장의 무게도 증가하였다.

Jerne plaque assay 측정 결과는 대조군에 비하여 홍삼산성다당체RGAP투여군에서 AFC 반응이 저해되었으며, 투여량에 의존하여 저해되었다. 그러나 NOS 저해제인 aminoguanidine 투여군에서는 대조군과 비슷하게 AFC 반응이 나타났으며 aminoguanidine과 홍삼산성다당체RGAP를 함께 투여한 군에서는 홍삼산성다당체RGAP에 의한 AFC 반응 저해가 완화되었음을 볼 수 있었다.



이 결과를 통해 홍삼산성다당체RGAP에 의한 AFC 반응 저해는 NO를 매개로 하여 이루어짐을 알 수 있다.

○ 홍삼산성다당체 마크로파지, 자연살해세포의 활성화에 의한 항암작용

(1) 연구목적

홍삼산성다당체RGAP의 이화학적 특성을 알아보기 위해 당조성을 분석하였고 in vitro 또는 in vivo에서 홍삼산성다당체RGAP 투여에 의한 면역증강작용을 확인하기 위하여 macrophage와 NK세포의 암세포 살해능을 확인하고, 홍삼산성다당체RGAP에 의한 NO 생성과 TNF- $\alpha$ 의 생성을 확인하였다. 또한 sacroma 180 이식 mice에서 홍삼산성다당체RGAP에 의한 수명연장을 및 B16 melanoma 이식 mice에 홍삼산성다당체RGAP를 투여시 나타나는 암세포 생성 억제 효과를 관찰하였다.

(2) 연구방법

1) 시험동물

4~5주령의 BALA/c mice 와 C57BL/6 mice의 암컷과 수컷, ICR mice 수컷 (복강투여)

2) 시료

사포닌등 비수용성 물질을 제거한 후 남은 잔사를 추출한 수용성 추출물에 EtOH로 침전시킨 후 홍삼산성다당체RGAP를 제조함.

3) 세포

B16-F10 melanoma, P815mastocytoma, WEHI 164 fibrinosarcoma 및 YAC-1 lymphoma

4) 통계분석

실험결과는 평균±표준편차로 나타내었으며, 처리에 의한 결과의 유의성 검정은 student's t-test로 분석하였다.

(3) 연구결과

1) 홍삼산성다당체RGAP의 이화학적 특성

홍삼산성다당체RGAP는 중성당이 28.3%, 산성당이 56.9%, 단백질이 0.1% 이하로 함유된 다당분획으로 GLC로 분석한 결과, 중성당은 glucose 92.4%, arabinose 5.53%, rhamnose 1.03%, galactose 1.02% 이었다. 산성당의 GLC 분석결과는 glucuronic acid 90.8%, galacturonic acid 9.2% 이었다.

2) NO 생성

① in vitro

복강 macrophage에 홍삼산성다당체RGAP를 0, 4, 40, 400 $\mu$ g/ml의 농도로 처리한 뒤, NO 생성과 P815 mastocytoma의 사멸을 확인한 결과, NO의 생성은 홍삼산성다당체RGAP의 농도의존적으로 2.2, 7.9, 10.6, 33.4 uM 로 유의성 있게 증가되었으며, P815 mastocytoma의 사멸 또한 0, 10.5, 23.9, 35.8%로 유의적으로 증가되었다.

홍삼산성다당체RGAP의 암세포 사멸이 NO를 매개로 일어남을 확인하기 위하여, NO 합성 억제제인 NMMA 1mM과 RGAP 400 $\mu$ g/ml를 동시에 처리한 결과, NO의 생성은 2.3uM로 감소되었으며, P815 mastocytoma의 사멸도 현저하게 억제되었다.

② in vivo

BALB/c mice에 홍삼산성다당체RGAP를 복강투여한 후 분리한 복강 macrophage를 P815 mastocytoma와 함께 배양시 NO 농도는 대조군에서 4.6uM이었으나, 홍삼산성다당체RGAP 100, 300mg/kg 투여로 각각 10.3uM, 26.8uM로 증가되었고, P815 mastocytoma의 사멸도 각 농도에서 15.3%, 25.9%로 유의성 있게 증가하였다.

3) TNF- $\alpha$  생성

복강 Macrophage의 배양액에 홍삼산성다당체RGAP를 0, 4, 40, 400ugl의 농도로 처리한 뒤 24시간 배양 후 배양 상등액을 WEHI 164세포에 가하여 WEHI 164세포의 사멸을 정량하였다. 그 결과 홍삼산성다당체RGAP는 농도 의존적으로 TNF- $\alpha$ 의 생성을 현저하게 증가시킨다 (Table 2).

또한, 홍삼산성다당체RGAP를 BALB/c 마우스에 복강투여하고 복강 macrophage를 분리하여 WEHI

Table 2. RGAP 처리에 의한 마크로파지의 TNF- $\alpha$  생성의 증가 (in vitro)

Treatment	$\mu$ g/ml	pg/10 <sup>6</sup> cells
Control	-	42 $\pm$ 28
RGAP	4	347 $\pm$ 82
	40	1,072 $\pm$ 94
	400	32,626 $\pm$ 47
LPS(양성대조군)	1	15,670 $\pm$ 47

Table 3. RGAP의 복강투여에 의한 복강마이크로파지의 WEHI164 tumor cell 사멸효과 (in vivo)

Treatment	$\mu\text{g/ml}$	$\text{pg}/10^6 \text{ cells}$
Control	-	$9.16 \pm 3.3$
RGAP	100	$9.18 \pm 2.9$
	300	$64.1 \pm 4.3$

164세포의 사멸을 측정된 결과, WEHI 164세포의 사멸이 홍삼산성다당체RGAP의 투여 용량 의존적으로 현저히 증가되었다 (Table 3).

4) NK 세포활성에 미치는 효과

NK 세포활성에 미치는 영향을 알아보기 위해 홍삼산성다당체RGAP를 100, 300mg/kg 용량으로 7일간 C57BL/6 mice에 복강투여한 후 비장세포를 effector 세포로 하고, YAC-1 lymphoma 세포를 표적세포로 하여 effector 세포와 표적세포 비율 25:1, 50:1, 100:1에서 세포활성을 측정된 결과, NK 세포활성을 유의적으로 증가하였다.

5) 홍삼산성다당체RGAP의 항암효과

Table 4. ICR 마우스에 복강으로 이식한 후 30일간의 생존율을 관찰한 결과

시험군	대조군	RGAP 100mg/kg	RGAP 300mg/kg	ara-C 5mg/kg
생존률(%)	0	57.1	85.7	28.6

Table 5. C57BL/6 mice에 이식된 B16 melanoma에 대한 홍삼산성다당체RGAP의 항암효과

Group	Dose (mg/kg)	Tumor Weigh (g)	Median	생존률 (%)	암 생성 억제률(%)	Significance (P)
Control	-	$2.82 \pm 0.50$	3.01			-
RGAP	100	$1.75 \pm 0.61$	1.78	57.1	39	<0.05
	300	$1.32 \pm 0.98$	0.89	85.7	53	<0.05
Ara-C	10	$0.95 \pm 1.28$	0.22	28.6	67	<0.05

○ 홍삼산성다당체RGAP와 항암제의 병용투여에 의한 항암시너지 효과

(1) 연구목적

홍삼산성다당체RGAP가 항암제와 병용투여로 항암제의 치료 효과를 증가시키고 항암제의 면역억제에 대한 심각한 부작용을 경감시킬 수 있는 면역증진제로서의 사용 가능성을 알아보기 위해 홍삼산성다당체RGAP와 기존의 항암제인 cyclophosphamide 및 5-fluorouracil과 병용투여하여 면역증진에 대한 시너지 효과를 확인하였다.

(2) 연구방법

1) 시료

홍삼 알콜 추출 후 남은 잔사를 건조 후 조분쇄하여 저분자 물질을 제거하고 에탄올로 침적하여 홍삼산성다당체RGAP를 제조함.

2) 실험동물

4~5주령의 C57BL/6계 및 ICR계 mice 수컷 (복강투여)

3) 세포

Table 6. 홍삼산성다당체RGAP(100mg/kg) 및 CY(3, 10mg/kg) 단독투여군과 홍삼산성다당체RGAP(100mg/kg)와 CY(3mg/kg)병용투여군의 sarco ma 180을 이식한 마우스에서 30일간 생존율.

Group	Dose(mg/kg)	암세포투여30일 후 생존률 (%)	생존일수 (평균±SD)	P
Control	-	0	16.4±1.71	
RGAP	100	43	22.2±1.93	p<0.01
CY	3	14	24.2±2.49	p<0.01
	10	43	23.6±1.96	p<0.01
RGAP+CY	RGAP+CY(3)	71	28.9±1.85	p<0.01

Table 7. 종양의 무게 감소 홍삼산성다당체RGAP(100mg/kg) 및 CY(10, 20mg/kg) 단독투여군과 홍삼산성다당체RGAP(100mg/kg)와 CY(10mg/kg) 그리고 홍삼산성다당체RGAP(100mg/kg)와 CY(20mg/kg) 병용투여군에서 LL/2 lung carcinoma이식에 의한 고형암의 무게 측정.

Group	Dose(mg/kg)	종양의 무게(mg)
Control	-	469±134
RGAP	100	339±163
CY	10	324±71*
RGAP+CY	RGAP(100)+CY(10)	287±132*
CY	20	167±183**
RGAP+CY	RGAP(100)+CY(20)	128±81**

\* p<0.05 vs control, \*\* p<0.01 vs control

LL/2 lung carcinoma cell line (ATCC CRL-1642)

#### 4) 통계분석

실험결과는 평균±표준편차로 나타내었으며, 처리에 의한 결과의 유의성 검정은 student's t-test로 분석하였다.

#### (3) 연구결과

1) 항암제 Cyclophosphamide(CY)와 RGAP의 항암시너지 작용

이러한 결과(Table 6, 7)는 홍삼산성다당체RGAP과

저용량의 CY를 병용투여시 고용량의 CY 투여보다 그 이상의 효과를 나타내는 시너지 효과가 있음을 나타내었다.

2) 항암제 5-Fluorouracil (5-FU)와 RGAP의 항암시너지 작용

홍삼산성다당체RGAP와 저용량의 5-FU를 병용투여시 5-FU의 단독투여군의 생존률(37.5)보다 1.7배 높았으나 5-FU(5.0mg/kg) 단독투여군보다는 낮았다 (Table 8).

Table 8. 홍삼산성다당체RGAP(100mg/kg) 및 5-FU(2.5, 5mg/kg) 단독투여군과 홍삼산성다당체RGAP(100mg/kg)와 5-FU(2.5mg/kg) 병용투여군의 sarcoma 180을 이식한 마우스에서 30일간 생존율.

Group	Dose(mg/kg)	암세포투여30일 후 생존률 (%)	생존일수 (평균±SD)	P
Control	-	0	16.4±1.33	
RGAP	100	25.0	23.1±6.17	p<0.01
5-FU	2.5	37.5	25.4±4.14	p<0.01
	5	87.5	29.3±2.21	p<0.01
RGAP+5-FU	RGAP+CY(2.5)	62.5	25.6±5.23	p<0.05

Table 9. 종양의 무게 감소 홍삼산성다당체RGAP(100mg/kg) 및 CY(10, 20mg/kg) 단독투여군과 홍삼산성다당체RGAP(100mg/kg)와 CY(10mg/kg) 그리고 홍삼산성다당체RGAP(100mg/kg)와 CY(20mg/kg) 병용투여군에서 LL/2 lung carcinoma이식에 의한 고형암의 무게를 측정.

Group	Dose(mg/kg)	종양의 무게(mg)
Control	-	894 ± 439
RGAP	100	875 ± 447
5-FU	5	666 ± 329
RGAP+5-FU	RGAP+CY(5)	528 ± 38*
5-FU	10	451 ± 219**
RGAP+5-FU	RGAP+CY(10)	234 ± 198**

\* p<0.05 vs control, \*\* p<0.01 vs control

홍삼산성다당체RGAP는 항암제 CY 또는 5-FU와 병용투여시 sacroma 180 및 LL/2 폐종양에 대해서 항암제 사용에 의한 면역독성과 같은 부작용을 경감시킬 수 있는 면역증진제로서의 사용가능성을 제시하였다(Table 9).

### ○ Enhancement of Antitumor Effects of Paclitaxel(Taxol) in Combination with Red Ginseng Acidic polysaccharide (RGAP)

#### (1) 연구목적

홍삼산성다당체RGAP의 면역증강작용을 확인하기 위하여 비장세포 증식능과 IL-6의 생성능을 확인하였고, 항암제(Paclitaxel)의 면역독성에 대해 홍삼산성다당체RGAP의 보호능력을 확인하기 위하여 NK 세포와 대식세포의 암세포 살상능을 Paclitaxel 단독투여군과 홍삼산성다당체RGAP와 Paclitaxel 병용투여군을 비교함으로써 홍삼산성다당체RGAP의 면역독성에 대한 보호능력을 확인하였다. 또한 홍삼산성다당체RGAP와 Paclitaxel의 병용투여에 의한 생존률 증가와 종양무게 감소를 확인하였다.

#### (2) 연구 방법

##### 1) 시료

사포닌을 제거한 홍삼의 수용성 분획을 dialysis를 시켜 저분자 물질을 제거하고 알콜로 침적하여 홍삼산성다당체RGAP를 제조함.

##### 2) 실험동물

5-6주령의 BALB/c, C57BL/6 및 ICR femal mice

##### 3) 통계분석

실험결과는 평균±표준편차로 나타내었으며, 처리에 의한 결과의 유의성 검정은 Student's t-test로 분석하였다.

#### (3) 연구결과

1) 홍삼산성다당체RGAP와 Taxol의 병용투여에 의한 생존률 증가

##### ① 시험방법

ICR mice에 sarcoma 180 tumor cell을 이식한 후 1,3,5일째 Paclitaxel(5, 15mg/kg)을 1-7일간 홍삼산성다당체RGAP(25mg/kg)를 병용 투여하고 쥐의 생존율을 조사하였다.

##### ② 결과

홍삼산성다당체RGAP(25mg/kg) 및 Paclitaxel(5, 15mg/kg) 단독투여군에서는 대조군에 비하여 생존율이 약간 상승하였으나, 홍삼산성다당체RGAP(25mg/kg)와 Paclitaxel(15mg/kg) 병용투여군에서의 생존율은 42%로 Paclitaxel(15mg/kg) 단독투여군에 비해 증가하였다.

2) 홍삼산성다당체RGAP와 Taxol의 병용투여에 의한 종양무게 감소

##### ① 시험방법

C57BL/6 mice의 등에 B16-F10 melanoma 세포를 이식후 1,3,5일째 Paclitaxel(10, 20mg/kg)을 1-7일간 홍삼산성다당체RGAP (100mg/kg)를 병용 투여하고 20일째 쥐를 희생하여 고형암의 무게를 측정하였다.



## ② 결과

Paclitaxel(10mg/kg)과 RGAP(100m/kg)을 함께 투여시 종양의 무게는 대조군과 비교하여 76.3%로 현저하게 유의성 있게 감소하였다.

## 3) 비장세포 증식능 조사

### ① 시험방법

BALB/c mice로부터 비장 세포를 T세포와 B세포로 분리한 후 홍삼산성다당체RGAP (1, 10, 100, 1000mg/kg)를 첨가하여 72시간 동안 배양한 후 MTT 법으로 증식능을 조사하였다.

## ② 결과

B cell의 증식은 농도 의존적으로 증가함을 볼 수 있었다.

## 4) IL-6 생성능 조사

### ① 시험방법

비장세포에 홍삼산성다당체RGAP (5, 50, 100, 500, 1000ug/ml)을 첨가하여 24시간 배양한 후 배양상등액 중의 IL-6를 ELISA 법으로 측정하였다.

## ② 결과

그 결과, IL-6의 생성은 농도 의존적으로 증가함을 볼 수 있었다.

## 5) 비장세포 증식능 조사

### ① 시험방법

BALB/c mice로부터 분리된 비장 세포에 Paclitaxel 50nM과 홍삼산성다당체RGAP (10, 100, 500, 1000ug/ml)를 첨가하여 72시간 동안 배양한 후 MTT 법으로 증식능을 조사하였다.

## ② 결과

Paclitaxel은 농도 의존적으로 비장세포 증식을 억제한다. 비장세포의 증식은 Paclitaxel 50nM 만큼 낮은 농도에서도 두드러진 억제를 나타낸다. Paclitaxel 50nM에 의해 저해된 비장 증식은 홍삼산성다당체RGAP에 의해 농도 의존적으로 현저히 회복된다.

## 6) 자연 살해세포의 암세포 살해능 조사

### ① 시험방법

NK 세포에 대한 Paclitaxel의 면역독성에 대해 홍삼산성다당체RGAP의 보호능력을 확인하기 위하여 Paclitaxel과 홍삼산성다당체RGAP를 전투여한 C57BL/6 mice의 비장세포를 적출한 뒤, 51Cr으로

방사성 표지된 YAC-1 암세포를 혼합배양하여 YAC-1 암세포의 파괴도를 측정하였다.

## ② 결과

Paclitaxel 단독투여시 상당히 저해되었던 NK 세포 활성이 Paclitaxel과 함께 홍삼산성다당체RGAP를 투여한 경우 저해된 NK 세포의 활성이 현저히 회복되었다.

## 7) 대식세포의 암세포 살해능 조사

### ① 시험방법

BALB/c mice의 macrophage와 51Cr으로 방사성 표지된 P815 암세포를 혼합배양시 홍삼산성다당체RGAP-stimulated spleen cell supernatants와 Paclitaxel이 P815 암세포의 살해능에 미치는 영향을 측정하였다.

## ② 결과

그 결과, 홍삼산성다당체RGAP-stimulated spleen cell supernatants, IFN- $\gamma$  그리고 Paclitaxel을 각각 단독투여한 경우, 암세포 살상능을 그리 높지 않았으나, 홍삼산성다당체RGAP-stimulated spleen cell supernatants와 Paclitaxel를 함께 처리한 경우 대조군에 비해 45% 이상의 암세포 살상능을 나타내었다.

## ○ 홍삼추출산사로부터 항암면역조절 활성을 보여주는 홍삼다당체(RGAP)의 분리 및 이화학적 특성

### (1) 연구목적

홍삼으로부터 홍삼추출물을 제조하고 부산물로 생성되는 홍삼추출산사의 산업적 활용성을 제고하고자 홍삼추출산사로부터 생성되는 홍삼산성다당체의 면역활성을 확인하고자 홍삼산성다당체RGAP의 NO 생성과 NO 매개성 암세포 살해능을 확인하였다.

### (2) 연구방법

#### 1) 실험동물

4~5주령의 BALB/c

#### 2) 실험방법

##### ① NO 정량

홍삼산성다당체RGAP(100, 300mg/kg)를 마우스에 1주일간 복강투여하였다. 이후 복강으로부터 macrophage를 분리한 뒤 24시간 배양하였다. 배양 중

Table 10. 홍삼산성다당체RGAP에 의한 macrophage의 NO 생성과 NO생성에 의한 P815암세포 사멸.

Group	NO production ( $\mu$ M)	Killing of P815 cell (%)
Control	4.3 $\pm$ 0.3	7.3 $\pm$ 8.2
홍삼산성다당체RGAP 100mg/kg	9.8 $\pm$ 0.4**	22.7 $\pm$ 6.4**
홍삼산성다당체RGAP 300mg/kg	25.3 $\pm$ 0.9**	31.8 $\pm$ 4.6**

료 후 상등액을 취해서 동량의 Griess 시약과 섞어 550nm에서 흡광도를 측정함으로써 정량하였다. 이 때 표준물질로는 sodium nitrite를 사용하였다.

② NO 매개성 암세포 살해능

복강으로부터 분리한 macrophage와 암세포 P815 mastocytoma를 함께 배양하였다. 배양종료 후 PMS/MTS 용액을 배양액에 첨가하고 37°C CO<sub>2</sub> incubator에서 4시간동안 배양하여 490nm에서 흡광도를 측정함으로써 암세포 살해능을 계산하였다.

(3) 연구결과

홍삼에서 분리된 홍삼산성다당체RGAP는 NO를 생성하여 암세포를 파괴한다는 사실이 이미 보고된 바 있다(Table 10).

고려인삼의 면역기능에 대한 상기의 실험결과들로부터 고려인삼의 성분은 비특이적으로 숙주의 면역기능을 증진하거나, 조절시켜주는 이른바 BRM (biological response modifier)으로 작용함이 시사되고 있다. 전통적으로 우리나라에서 면역증강에 도움을 주는 목적으로 사용하고 있는 고려인삼 중 면역조절에 도움이 되는 핵심소재를 과학화함으로써 건강기능식품원료로 개발한다면 국민의 건강유지 뿐만 아니라 새로운 기능성 식품소재로서 다양한 종류의 상품을 개발할 수 있을 것으로 생각된다. 아울러 국내 식품산업 발전 및 인삼산업발전과 해외수출 등 국가경제에도 기여할 수 있을 것으로 사료되어진다.

참고 문헌

1. Kim YS, Kang KS and Kim SI. Study on antitumor and immunomodulating activities of polysaccharide fractions from

*Panax ginseng*: Comparison of effects of neutral and acidic polysaccharide fraction. Arch. Pharm. Res. 13: 330-335 (1990)

2. Kim YS, Kang KS and Kim SI. Effects of ginseng component on immunotoxicity of cyclophosphamide. Korean J. Ginseng Sci. 15: 13-20 (1991)

3. Lee YS, Chung IS, Lee IR, Kim KH, Hong WS and Yun YS. Activation of multiple effector pathways of immune system by the antineoplastic immunostimulator acidic polysaccharide ginsan isolated from *Panax ginseng*. Anticancer Res. 17: 323 (1997)

4. Park KM, Jeong TC, Kim YS, Shin HJ, Nam KY and Park JD. Immunomodulatory effect of acidic polysaccharide fraction from Korean red ginseng. Natural Product Sciences. 6: 31-35 (2000)

5. Srivastava R and Kulshreshtha DK. Bioactive polysaccharide from plants. Phytochem. 28: 2877 (1989)

6. Kim KH, Lee YS, Jung JS, Park SY, Chung HY, Lee IR and Yun YS. Acidic polysaccharide from *Panax ginseng*, ginsan, induces Th1 cell and macrophage cytokines and generates LAK cells in synergy with rIL-2. Planta Medica. 64: 110-115 (1998)

7. Konno C, Sugiyama K, Kano M, Takahashi M and Hikino H. Isolation and hypoglycemic activity of panaxans A, B, C, D and E, glycans of *Panax ginseng* roots. Planata Medica. 50: 433-436 (1984)

8. Hikino H, Oshima Y, Suzuki Y and Konno C. Isolation and hypoglycemic activity of panaxans F, G, H, I, J, K and L, glycans of *Panax ginseng* roots. Shoyakigaku Zasshi. 39: 331-337 (1985)

9. Konno C and Hikino H. Isolation and hypoglycemic activity of panaxans M, N, O and P, glycans of *Panax ginseng* roots. Int. J. Crude Drug. Res. 25: 53 (1987)

10. Konno C, Murakami M, Oshima Y and Hikino H. Isolation and hypoglycemic activity of panaxans Q, R, S, T and U, glycans of *Panax ginseng* roots. J. Ethnopharmacol. 14: 69-74 (1985)

11. Kim YS, Park KM, Shin HJ, Song KS, Nam KY and Park JD. Anticancer activities of red ginseng acidic polysaccharide by activation of macrophages and natural killer cells. Yakhak Hoeji. 46(2): 113-119 (2002)

12. Kwak YS, Kim SK, Shin HJ, Song YB and Park JD. Anticancer activities by combines treatment of red ginseng acidic polysaccharide (RGAP) and anticancer agents. J. Ginseng Res. 27(2): 47-51 (2003)

13. Kwak YS, Shin HJ, Song YB and Park JD. Isolation of immunomodulatory antitumor active polysaccharide (RGAP) from red ginseng by-product and its physico-chemical properties. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 32(5): 752-757 (2003)

14. Park JD. Recent studies on the chemical substituents of Korean ginseng. *Korean J. Ginseng Sci.* 20: 389-396 (1996)
15. Park KM, Kim YS, Jeong TC, Joe CO, Shin HJ, Lee YH, Nam KY and Park JD. Nitric oxide is involved in the immunomodulating activities of acidic polysaccharide from *Panax ginseng*. *Planta Medica.* 67: 122-126 (2001)
16. Rubinstein LV, Paull KD, Shoemaker RH, Simon RM, Skehan P and Boyd MR. Proceeding of the American Association for Cancer Reserch. 30: 2418 (1989)
17. 지형준, 이상인. *대한약전의 한약 생약규격집 주해서* 636, 한국메디칼인텍스사 (1987)
18. RGAP 랫드를 이용한 단회 경구투여 독성시험(시험번호: G02056), 한국 화학연구원 부설 안전성평가연구소(대전, 유성구) (2002)
19. RGAP 랫드를 이용한 단회 복강투여 독성시험(시험번호: G02058), 한국 화학연구원 부설 안전성평가연구소(대전, 유성구) (2002)
20. RGAP 랫드를 이용한 2주간 반복 경구투여 독성시험(시험번호: N02056), 한국화학연구원 부설 안전성평가연구소(대전, 유성구) (2003)
21. RGAP 랫드를 이용한 단회 2주간 반복 복강투여 독성시험(시험번호: N02057), 한국화학연구원 부설 안전성평가연구소(대전, 유성구) (2003)
22. 남기열, 박종대. 인삼의 한의학적 및 현대임상적 측면에서의 복용량 검토. *J. Ginseng Res.* 24(2): 99-105 (2000)
23. 김동윤, 장재철. 홍삼 분획물이 감마선을 조사한 생쥐 간에서 항산화물질과 지질과산화에 미치는 방사선 보호효과. *Korean J. Ginseng Sci* 22(1): 1-10 (1998)
24. 김기환, 이인란, 정인성, 정희용, 윤연숙. 항암 면역 증강 작용이 있는 인삼다당체에 의한 cytokine mRNA의 발현. *J. Ginseng Res.* 22(4): 324-330 (1998)
25. 권이성, 신한재, 송용범, 박종대. 홍삼추출잔사로부터 항암면역조절 활성을 보여주는 홍삼산성다당체(RGAP)의 분리 및 이화학적 특성. *한국식품영양과학회지* 32(5): 752-757 (2003)
26. Kumar A. Chemopreventive action of ginseng on DMBA-induced papiloma genesis in the skin of mice. *Proc. 6th Int'l. Ginseng Symp. Korea Ginseng Tobacco Research Institute,* 66-73 (1993)
27. Hwang WI and Sohn JW. 한국 및 중국 홍삼의 암세포 증식억제 효과 비교연구(III). *Korean J. Ginseng Sci.* 17(3): 196-202 (1993)
28. Choi SG and Heo MY. Anticlastogenic effect of petroleum ether extract of *Panax ginseng* against carcinogens-induced micronuclei in mice. *Yakhkhoeji* 36(4): 334-340 (1992)
29. Ahn Y.K., Kim J.Y., Chung J.G., Kim J.H. and Goo J.D. The effect of Korean ginseng on the Immunotoxicity of mitomycin C. *Yakhkhoeji* 31(6): 355-360 (1987)
30. 조성기, 육홍선, 변명우. 감마선 조사 홍삼의 안전성에 관한 유전독성학적 연구. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 25(3): 491-496 (1996)
31. Okuda H, Sekiya K, Masuno H, Takaku T and Kameda K. Studies on selective modulators and anti-anorexigenic agents in Korean red ginseng. *Korean J. Ginseng Sci.* 11(2): 145-153 (1987)
32. 김기환, 정인성, 정희용, 조성기, 윤연숙. 홍삼다당체의 항암면역 증강 작용 연구. *Korean J. Ginseng Sci.* 21(2): 78-84 (1997)
33. 남기열. *최신고려인삼 성분 및 효능편* p.184-186, 한국인삼연초연구원 (1996)
34. 남기열. *최신고려인삼 성분 및 효능편* p.178, 한국인삼연초연구원 (1996)
35. Kim E, Hyun HC and Na KJ. Protective effect of Korean red ginseng against dichromate toxicity. *Korean J. Ginseng Sci.* 14(2): 274-278 (1990)
36. Kim YS. Protective effect of ginseng polysaccharide fraction on CCl<sub>4</sub>-induced hepatotoxicity in vitro and in vivo. *Korean J. Ginseng Sci.* 19(2): 108-113 (1995)
37. Nada SA and Arbid MS. Protective effect of *Panax ginseng* against tetracycline toxicity in rats. *J. Ginseng Res.* 24(2): 94-98 (2000)
38. Lee CK, Han YN, Kim NY and Choi JW. 홍삼의 사염화탄소 및 갈락토사민 유발 간독성에 대한 치료효과. *J. Ginseng Res.* 27(1): 11-16 (2003)
39. Lee CK, Kim NY, Han YN and Choi JW. 홍삼의 전처리에 의한 사염화탄소 및 갈락토사민 유발 간독성에 대한 보호효과. *J. Ginseng Res.* 27(1): 1-10 (2003)
40. Wee JJ, Heo JN, Kim MW and Kang DY. Protective effect of Korean red ginseng against oxidative damage by carbon tetrachloride in rat. *Korean J. Ginseng Sci.* 20(2): 154-158 (1996)
41. Zhou ZM, Li ZL, Nie SQ, Li LX, Sun XM Wang YL, Liang EH, Li GQ and Yang LX. Effects of Korea red ginseng on substance metabolism and endocrinic function in animals. *Korean J. Ginseng Sci.* 14(2): 210-212 (1990)
42. Shin HJ, Kim YS, Kwak YS, Song YB, Kim YS and Park JD. Enhancement of antitumor effects of Paclitaxel(Taxol) in combination with red ginseng acidic polysaccharide(RGAP). *Planta Med.* 70: 1-6 (2004)
43. 홍삼으로부터 분리된 항암면역조절효과를 갖는 신규 산성다당체 및 이를 함유하는 항암면역조절용 조성물. 대한민국특허 출원번호 2001-0033115 (2001), 등록번호 10-0450061 (2004)
44. 택솔 및 홍삼산성다당체를 포함하는 항암용 약학적 조성물. 대한민국특허출원번호 10-2002-0053950 (2002)
45. 항암 및 항암보조용 약제학적 조성물. 대한민국특허 출원번호 10-2003-0099360 (2003)
46. Kim ND, Kang SY, Choi WS, Kim SH, Kang KW and Park JH. 인삼의 약리 작용-내피와 관련하여. *Korean J. Ginseng Sci.* 20(4): 416-430 (1996)
47. Oh JS. Pharmacology of Ginseng. *Korean J. Ginseng Sci.*

- 1(1): 1-11 (1976)
48. Hwang WI. 인삼의 항암작용. Korean J. Ginseng Sci. 16(2): 170-171 (1992)
49. Nam KY. 고려인삼의 주요 효능과 그 임상적 응용. J. Ginseng Res. 26(3): 111-131 (2002)
50. Hwang WI. 고려인삼의 항암작용 연구. J. Ginseng Res. 25(1): 31-36 (2001)
51. Yun TK. 인삼의 임상적연구의 실상과 향후전망. Korean J. Ginseng Sci. 20(4): 520-539 (1996)
52. Kim ND. 홍삼의 약리작용. J. Ginseng Res. 25(1): 2-10 (2001)
53. Cho YD. 인삼성분의 임상적 효능과 생화학적 작용기전. J. Ginseng Res. 25(1): 19-25 (2001)
54. Lee CK, Choi JW, Kim SH, Kim HK and Han YN. 홍삼산성다당체의 생리 활성 연구(I)-알코올 증독 동물의 간장 알코올 해독계에 미치는 영향. J. Ginseng Res. 22(4): 260-266 (1998)
55. Lee CK, Choi JW, Kim SH, Kim HK and Han YN. 홍삼산성다당체의 생리 활성 연구(III)-아세트아미노펜 처리 흰쥐의 대사기능에 미치는 영향. J. Ginseng Res. 22(4): 267-273 (1998)
56. Han BH. 인삼의 활성성분 및 기타연구. J. Ginseng Res. 25(1): 26-30 (2001)
57. Lee CK, Choi JW, Kim HY, Han YN. 홍삼산성다당체의 생리 활성연구 (II)-알코올성 고지혈증에 미치는 영향. J. Ginseng Res. 23(1): 8-12 (1999)
58. Lee SD, Hwang YK, Okuda H. 고려인삼중 다당체 성분이 암독소 호르몬 -L의 지방분해 작용과 안지오텐신 변환효소의 활성화에 미치는 영향. Korean J. Ginseng Sci. 20(3): 248-255 (1996)
59. Huh K, Lee TK, Park JM and Shin US. Preventive effect of ginseng butanol fraction against acetaldehyde-induced acute toxicity. Korean J. Ginseng Sci. 13(1): 5-7 (1989)
60. Kim DC, In MJ, Lee JY, Hwang YK, Lee SD. Antithrombin Active Polysaccharide Isolated from the Alkaline Extract of Red Ginseng. J. Ginseng Res. 23(4): 217-221 (1999)
61. Kumar A. Immunomodulatory response induced by ginseng. J. Ginseng Res. 27(3): 115-119 (2003)
62. Shin HJ, Park KM, Kim YS, Nam KY, Lee YH and Park JD. Isolation and characterization of immunomodulatory glycoprotein from the root of Panax ginseng. J. Ginseng Res. 24(3): 128-133 (2000)
63. Lee JW, Park KM and Park KH. Serum IgE immune response after the exposure to Korean ginseng. Korean J. Ginseng Sci. 18(2): 113-117 (1994)
64. Suh SO, Jeung CH, Cho MY and Soon GS. 소화기계암의 수술후 면역기능에 대한 고려홍삼의 효과. Korean J. Ginseng Sci. 22(1): 32-42 (1998)
65. Lee SD, Shin YJ, Hwang HJ, Hwang YK. 고려홍삼 다당체 성분이 암 독소 호르몬-L의 체지방 분해작용에 미치는 영향. Korean J. Food & Nutrition. 8(2): 110-115 (1995)
66. Hwang YK, Lee SD. 홍삼 산성 다당체 성분의 암독소 호르몬-L에 의한 지방 분해 저해 활성. Korean J. Food & Nutrition. 5(1): 7-12 (1992)
67. Jang SK, Kim JH, Chung YS, Ahn DC, Kang MJ, Lee DG and Kim SH. 한국 홍삼의 면역활성 및 항암효과에 관한 실험적 연구. Korean J. Ginseng Sci. 18(3): 151-159 (1994)
68. Song JY, Yi SY, Jung IS, Yun YS. 인삼 다당체가 생쥐의 조혈과정에 미치는 영향. J. Ginseng Res. 25(2): 63-67 (2001)
69. Lee SD, Hwang YK, Okuda H. Inhibitory Activity of Korean Ginseng on Lipolytic Action of Toxohormone-L from Cancerous Ascites Fluid. Korean J. Food & Nutrition. 7(4): 383-391 (1994)
70. Kim HS, Seong YH, Yang JW, Jeon BS, Park UY, Park WK, Oh KW and Choi KJ. 홍삼 및 숙지황의 혼합추출물의 고혈당강화작용. Korean J. Ginseng Sci. 21(3): 169-173 (1997)
71. Lee SD, Hwang YK and Okuda H. 癌毒素(Toxohormone-L)의 作用을 阻害하는 紅蔘酸性多糖體의 分離 및 精製. Korean J. Food & Nutrition. 3(2): 133-139 (1990)
72. Lee SD and Okuda H. 고려 인삼의 산성다당체 성분이 암독소 호르몬-L의 지방질 분해 작용에 미치는 영향. Korean J. Ginseng Sci. 14(1): 67-73 (1990)
73. Lee SD, Kameda Kenji, Takaku T, Sekiya K, Hirose K, Ohtani K, Tanaka O, Okuda H. Effect of acidic polysaccharide of red Ginseng on Lipolytic Action of Toxohormone-L from Cancerous Ascites Fluid. Korean J. Ginseng Sci. 14(1): 1-5 (1990)
74. Shin MR. Studies on the antidotal effect of Panax ginseng. Korean J. Ginseng Sci. 1(1): 59-78 (1976)
75. Lee DW, Sohn HO, Lim HB and Lee YG. Antioxidant action of ginseng: An hypothesis. Korean J. Ginseng Sci. 19(1): 31-38 (1995)
76. Choi JH, Kim YS, Lee KM and Kim HJ. 홍삼복용이 노인들의 유산소 운동시 발생된 활성산소에 미치는 영향. J. Ginseng Res. 28(1): 27-32 (2004)
77. Jung NP and Jin SH. 고려인삼의 생리·생화학적 효과연구. Korean J. Ginseng Sci. 20(4): 431-471 (1996)