

인삼배당체 Rd의 CD4⁺Th 임파구에 대한 면역조절효과

주인경 · 김정현 · 오마 쉐자드* · 김영식* · 한용문#

동덕여자대학교 약학대학 면역·미생물학교실

*서울대학교 약학대학 천연물연구소

(Received January 4, 2013; Revised February 22, 2013; Accepted February 25, 2013)

Immunoregulatory Effect of Ginsenoside Rd against CD4⁺ Th lymphocyte

Inkyung Joo, Jeonghyeon Kim, Omer Shehzad*, Yeong Shik Kim* and Yongmoon Han#

Department of ImmunoMicrobiology, College of Pharmacy, Dongduk Women's University, Seoul 136-714, Korea

*Natural Products Research Institute, College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 136-791, Korea

Abstract — In this present study, we determined the immunoregulatory activity of ginsenoside Rd extract from *Panax ginseng*. To determine the activity, we tested Rd against CD4⁺Th cells in a murine model of type 1 diabetes, which involves Th1-dominant immunity. The type 1 diabetes was caused by streptozotocin (STZ) and the severity of the diabetes was evaluated by measuring the degree of hyperglycemia, a major symptom of diabetes. The data resulting from experiments showed that ginsenoside Rd induced a greater level of Th1 type cytokines [IFN- γ & IL-2] than Th2 type [IL-4 & IL-10] ($P < 0.05$), which was determined by cytokine profile analysis. In the animal model of diabetes, the depletion of CD4⁺ Th cells by a treatment of anti-CD4 mAb resulted in considerably lower values of blood-glucose levels than those of the mAb-untreated mice, which indicates that the Th1 immune response from CD4⁺ Th cells are responsible for diabetes. Based on these observations, the effect of Rd on diabetes was examined in the same animal model. Results showed that Rd-treated mice groups had increased levels of blood glucose compared to Rd-untreated mice groups that were used as a negative control ($P < 0.05$). In other words, Rd aggravated the diabetes via the Th1 immune response. In conclusion, ginsenoside Rd had an immunoregulatory activity of Th1-dominant immunity.

Keywords □ immunoregulatory, ginsenoside Rd, diabetes, streptozotocin, CD4⁺ Th cell, anti-CD4 mAb

획득면역계(Acquired immune system)는 일반적으로 세포매개성 면역(Cell mediated immunity)과 체액면역(Humoral immunity)으로 분류되는데, 이 양대 면역에서 중요한 면역세포는 CD4⁺T helper lymphocyte(Th 세포)이라고 해도 과언이 아닐 정도로 숙주의 면역반응 발현과 조절에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.¹⁾ Th 세포는 숙주 내 조건이나 환경에 의해서 Th1(T-helper 1 cell), Th2(T-helper 2 cell) 두 가지 종류로 분화하여 cytokines 분비와 기능에 있어서 차이를 보이며, 이 subtype의 조화는 면역 반응의 조절에 있어 중요한 이론으로 대두되고 있다.²⁾ Th1 세포는 IFN- γ 를 특이적으로 분비하며 주로 macrophage의 활성화를 통한 세포매개성 면역반응을 유도하여 염증반응을 일으키는 반면에, Th2는 IL-4, IL-10 등의 사이토카

인을 분비하여 체액성 면역반응을 유도하며 서로 상대 면역반응을 억제한다.³⁾ 이 상반되는 면역반응의 상호비교를 통해서 Th1은 세포매개성 면역력을 주로 발현하며 Th2는 체액면역 발현에 관여하는 것은 이미 보편화된 내용이라고 할 정도이다. 질환발생의 측면에서 예를 들자면, Th1 면역유도성이 과도하게 발현하면 비정상적인 세포매개성 면역의 발현으로 인한 CTL(cytotoxic T-lymphocyte)이 정상 이상으로 작동하여 이로 인한 세포와 조직의 파괴를 초래하여 자가 면역질환을 야기하기도 한다.⁴⁾ 그래서 최근의 타 연구자들의 연구결과들을 고찰해 보면, 특정한 질환에서 Th1-Th2 중 어느 한 쪽의 면역반응이 우세하게 발현됨이 보고되고 있다.³⁾ 이런 점을 이용하면 자가 면역질환에 대한 특정물질(예: 천연물 성분)의 면역조절 작용기전을 검색해 볼 수 있을 것이다. 문헌에 의하면, 자가 면역반응 질환에서 cytokine들이 핵심적인 역할을 하는데, Th1 type의 cytokine인 IFN- γ , TNF- α , IL-2, IL-17 등은 자가 면역반응을 촉진하지만 Th2 type의 cytokine인 IL-4, IL-10, TGF- β 등은 자가 면역반응을 억제

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-940-4521 (팩스) 02-940-4195
(E-mail) ymhan@dongduk.ac.kr

하는 것으로 규명된 바 있다.^{4,5)} 그러므로 자가 면역 질환인 제1형 당뇨병에서는 Th1 면역반응이 우세하다고 할 수 있다.

당뇨병은 인슐린 의존성 제1형 당뇨병과 인슐린 비의존성 제2형 당뇨병으로 구분된다.⁶⁾ 제1형 당뇨병은 자가 면역질환의 일종으로 췌장의 인슐린 분비세포(pancreatic β -islet cell)의 선택적 파괴로 인한 인슐린 분비의 저하에 기인하는 것으로 알려져 있다.⁴⁾ 그러므로 당뇨병 치료의 기본 방안은 혈당을 정상수준으로 유지하는 것이다. 정상혈당 유지를 위해서 식이요법, 인슐린 주사, 경구혈당강하제 복용 등의 치료법이 주로 사용되며⁷⁾ 최근에는 췌장 세포 이식,^{8,9)} 유전자 치료,¹⁰⁻¹²⁾ 줄기세포 이식^{13,14)}과 같은 방법을 적용해서 당뇨병의 진행을 지연하거나 완치할 수 있는 치료법에도 연구가 집중되고 있다. 또한, 당뇨병 예방에도 연구가 활발하여 당뇨병 예방과 치료에 효과가 있는 천연물성분의 발견에 이어서 이들의 작용기전 규명이 뒤 따르고 있음을 알 수가 있다.¹⁵⁻¹⁷⁾ 당뇨병 혈당 조절기전은 여러 측면에서 접근할 수 있다. 그 중에서도 제1형 당뇨병이 자가 면역질환임에 근거하면, 면역반응조절에 의한 혈당조절을 고려 해볼 수가 있다. 이런 관점에서 볼 때, 면역반응 조절에 중추적 역할을 담당하는 Th cell의 면역반응성 여부에 따라 당뇨병치료의 가능성도 예측되지만, 이를 입증할 보고는 거의 전무하다.

상기에 언급한 바와 같이 본 연구의 목적을 위해서, 천연물 성분으로 인삼에 함유된 인삼배당체(ginsenosides)를 선정 하였다. 인삼배당체는 인삼의 주요성분으로서 스테로이드 화학구조를 모핵(moiety)으로 하고 치환기에 붙은 당(glucose)의 구조에 따라 다양한 종류로 존재하는데 이를 protopanaxatriol(PT)군과 protopanaxadiol(PD)군 두 가지로 분류하며,¹⁸⁾ 각 군은 약리효능에 있어서 서로 차이가 있는 것으로 알려져 있다. 혈당조절에 관련해서 타 연구자의 연구결과를 비교해보면, 인삼배당체의 혼합물이라고 할 수 있는 인삼 추출물이 제1형 당뇨병 동물모델에 있어 고혈당을 낮춘다고 보고된 바 있다.¹⁹⁾ 하지만, 각각의 단일성분의 당뇨병에 대한 효과를 보면 protopanaxadiol에 속하는 인삼배당체 중에서 Rd와 Rc는 항 당뇨효과인 고혈당을 낮추는 활성이 없다.^{20,21)}

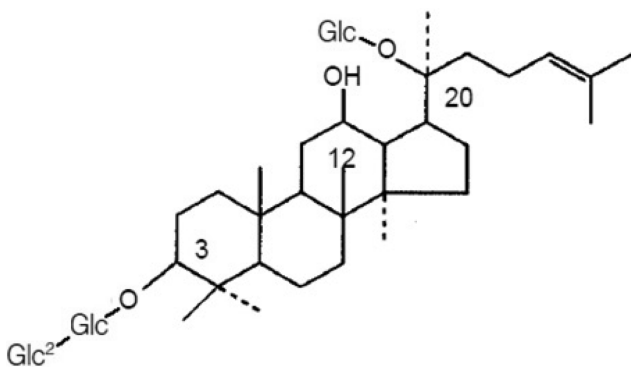


Fig. 1 - Chemical structures of ginsenosides Rd. Rd has a moiety of a steroid structure.

본 연구에서는 자가 면역질환의 일종인 제1형 당뇨병 동물 모델을 사용하여 인삼배당체 Rd(Fig. 1)의 면역조절 작용기전을 연구 조사하였다. 부수적으로 산출된 연구결과는 당뇨병에 대한 면역학적 치료법의 가능성도 포함될 것으로 여겨진다.

재료 및 실험방법

동물

실험에 사용한 동물 5주령의 암컷 생쥐(BALB/C)를 중앙실험동물(Central Lab. Animal Inc., Korea)에서 구입하여 멸균된 filter-top cage에서 멸균된 사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 사육하여 실험하였다. 동물실의 환경은 온도 $20 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $50 \pm 10\%$ 가 유지되도록 하였으며 조명은 12시간 간격으로 주야를 자동으로 조절하였다. 동물관리는 동덕여자대학교 동물관리규정에 따라 취급하였다.

Ginsenoside Rd

Ginsenoside Rd는 기 연구에서 사용한 방법을 적용하여 추출 분리하였다.²²⁾ 이 방법을 간략히 요약하면 다음과 같다. 인삼(*Panax ginseng*) 추출액을 HSCCC-ELSD 분리법으로 먼저 정제한 후, Diaion-HP-20 컬럼을 사용하여 메탄올과 물의 다양한 비율에 따라 protopanaxadiol과 protopanaxatriol을 각각 분획하고 각 분획물을 HSCCC-ELSD로 정제하였는데, 이때 사용한 용출용매는 chloroform/methanol/water/isopropanol 혼합 용매를 4:3:2:1 비율로 혼합하여 사용하였다. 이 방법으로 수집한 분획물을 건조하여 본 실험에 사용하였다.

Th1 대 Th2 면역성 검색

Ginsenoside Rd(50 mg/kg of body-weight)를 복강(i.p.) 경로로 생쥐에 6일간 이틀 간격으로 3회 주사한 다음에 마지막 주사 후 5일 째에 생쥐의 꼬리 동맥에서 채혈하여 혈청을 수집하였다. Rd는 본 실험에 사용하기 전에 인산완충용액(DPBS: Dulbecco's phosphate buffer solution, Sigma)에 용해한 다음에 원하는 농도로 희석하여 사용하였다. 음성대조군 생쥐에게는 Rd 대신에 DPBS만을 동일한 투여경로 주사하였다. 수집한 혈청에 함유한 cytokine profile을 검색하기 위해서 상업용 ELISA kit(DuoSet mouse IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-10, R&D System)을 사용하여 검색하였다. Cytokine profile 관련문헌에 따라⁴⁾ Th1 cytokine으로 IFN- γ 와 IL-2를 선정하였고, Th2 cytokine으로는 IL-4와 IL-10를 선정하였다. cytokine profile은 양 면역반응의 분비정도에 따라 우세성을 평가하였다.

제1형 당뇨병 유도

타 연구자들이 보고한 방법을 적용하였다.²³⁾ 이 방법을 간략

히 기술하면 다음과 같다. 제1형 당뇨병을 유발시키기 위하여 streptozotocin(STZ; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 40 mg/kg of body-weight 농도가 되도록 하여 차가운 0.1 M sodium citrate buffer(pH 4.5)에 동물(생쥐)에 복강으로 주사하기 직전에 용해하여 사용하였다. STZ는 5일 동안 매일 동일한 농도를 동일한 경로를 통해 생쥐들에게 주사하였다. 마지막 STZ 주사 후 2 주 뒤에 STZ로 처리된 생쥐의 꼬리정맥에서 채혈하여 혈당측정기(The Freestyle Freedom, Abbott Co. USA)를 사용하여 혈당을 측정하였다. 혈당시험지도 혈당측정기를 구입한 계열회사(Abbott Diabetes Care Ltd. Lot# 1277742, UK)에서 구입하여 사용하였다. 당뇨유발의 평가여부는 본 연구에서 인용한 참고문헌²³⁾에 기술한 바에 따라 고혈당 기준으로 200 mg/dl 이상인 생쥐를 제 1형의 당뇨병이 유도된 것으로 간주하였다. 또 다른 문헌²⁴⁾에서도 200 mg/dl 이상을 고혈당 기준으로 설정한 것을 역시 하였다.

당부하 검사(Glucose Tolerance Test: GTT)

당부하 검사는 생쥐에 마지막 STZ를 투여한 다음에 2주일 후에 시행하였는데, 타 연구자의 기 보고된 연구방법²⁵⁾에 따라 STZ로 전 처리한 생쥐 16시간 동안 금식시킨 후 glucose 용액 2g/kg(Difco Dextrose, lot# 7262498, BD, France)을 복강으로 투여하였다. glucose 용액은 멸균된 DPBS에 용해하여 0.2 ml 부피에 2g의 glucose가 함유되도록 조제하여 사용하였다. 비교를 위해서 glucose 투여 직전 생쥐의 꼬리 정맥으로부터 혈당을 측정하였고(Time 0) 투여 후 30분, 60분, 120분 후 꼬리 정맥에서 혈당을 재차 측정하였다.

Anti-CD4+ 단항체의 당뇨에 미치는 효과 검색

CD4+ Th 임파구의 Th1 면역반응을 선호하는 당뇨병의 발현에 미치는 영향을 조사하기 위해서, 본 실험방법에서는 anti-CD4 단항체를 생쥐에 복강으로 투여하여 Th 임파구를 제거한 후 당뇨병의 발현 유무를 검사하였다. anti-CD4 항체는 300 µl/mouse 용량으로 DPBS 0.5 ml에 제조하여 총 4회 복강주사 하였다. 주사는 3일 간격으로 하였으며 투여군은 STZ 주사 전 2회 및 주사와 동시에 2회 투여하였으며, 대조군생쥐에게는 실험생쥐 군에 사용한 동일한 접종계획(injection schedule)에 따라, 항체대신에 항체희석에 사용한 DPBS(0.5 ml)만을 주사하였다. 당부하 검사는 상기 기술한 바와 같이 STZ 마지막 주사일로부터 2주일 후에 시행하였다. anti-CD4 단항체는 GK1.5 Class로 Rat에서 생성된 IgG2b 항체인데 Sigma에서 구입하여 본 연구에 사용하였다.

인삼배당체 Rd의 항 당뇨효과 검색

상기에 기술한 STZ로 유도한 제1형 당뇨병 생쥐모델에 따라서 인삼배당체 Rd를 투여하여 고혈당에 미치는 영향을 검색하

였다. 당뇨병이 유도된 생쥐를 두 그룹으로 분류하여 실험군 생쥐에는 인삼배당체 Rd(1 mg/mouse/0.2 ml) 용량으로 2일 간격으로 총 6회 복강으로 주사하였고, 대조군 생쥐에는 희석액으로 사용한 DPBS만을 0.2 ml/ 2일 간격으로 6회 동일한 경로로 주사하였다. 마지막 약물주사 후 다음 날 16시간 금식시킨 다음에 상기 기술한 방법으로 이들 생쥐에 대한 당부하 검사를 하였다.

통계

실험결과는 평균±표준오차(Mean±S.E.)로 계산하였다. 각 군간의 유의성 검증은 Student's t-test를 사용하였으며, 평가치(value)가 5% 미만일 경우 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

실험결과

인삼배당체 Rd의 면역성

Ginsenoside Rd의 면역조절 효과를 평가하기 위해서 Rd로 처리된 생쥐그룹에서 수집한 혈청과 음성대조군 생쥐들에게서 수

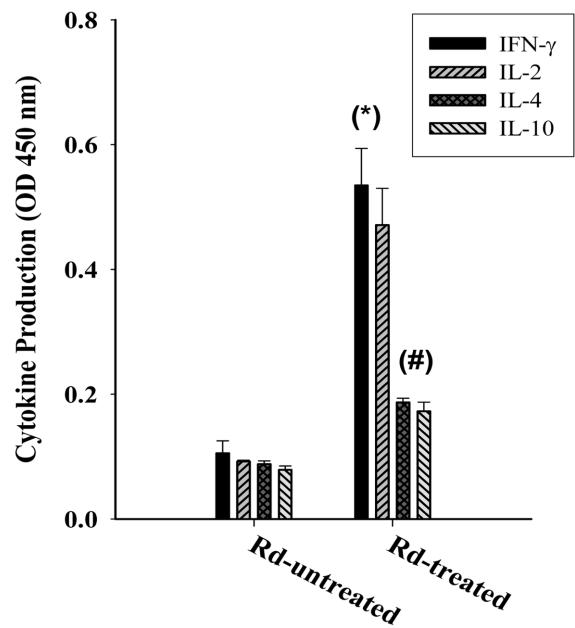


Fig. 2 – Ginsenoside Rd provokes Th1 immunity as analyzed by cytokine profile. Mice were given ginsenoside Rd once a day every other day via intraperitoneal (i.p.) route for a total of 3 times. Five days after the last Rd injection, the mice were bled from the tail artery, and the sera part was collected. The sera was used to detect the presence of cytokines. The presence of Rd produced enhancement of induction of the cytokines. The comparison of the amounts of cytokines, the Rd presence induced a greater amount of Th1 type cytokines [IFN-γ & IL-2] (*) than Th2 type cytokines [IL-4 & IL-10] (#). Difference between the two groups were statistically significant (P<0.05). Error bar: S.E.

집한 혈청을 사용하여 cytokine profile을 조사하였다. 조사결과를 평가하여 Th1 대 Th2의 면역성을 비교 평가하였다. 그 결과 Rd로 처리한 경우 음성대조군에 비해서 Th1 면역반응을 대표하는 IFN- γ 와 IL-2 생성이 거의 5배 이내로 증가한 반면에 Th2 면역반응을 대표하는 IL-4와 IL-10의 생성도 음성대조군에 비해서 약 0.8배 정도로 증가한 것으로 검색 되었다(Fig. 2). 이 결과, ginsenoside Rd는 Th2 면역반응 보다는 Th1 우세한 면역반응을 유도하는 것으로 분석되었다.

Anti-CD4 단항체의 제 1형 당뇨병에 대한 효과

Anti-CD4 단항체를 주사하여 CD4+ T 임파구를 제거한 실험 생쥐군은 당부하 검색 결과에서 glucose 투여 후 30분에 혈당이 약 220 mg/dl 이다가 60분에 약 155 mg/dl 정도로 감소되었지만 같은 시간대의 Anti-CD4 단항체로 처리하지 않은 대조군의 혈당은 300에서 255 mg/dl 정도로 감소 경향은 보여서 120분의 관측기간 동안에 실험군이 항상 더 높은 수치를 보였다(Fig. 3). 각 시각 때의 두 그룹간의 차이점은 통계학적으로 유의성 있다($P <$

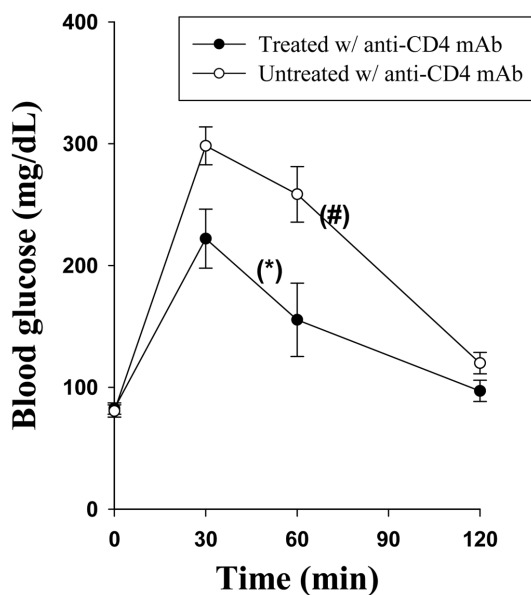


Fig. 3 – Treatment with anti-CD4 antibody reduces the blood glucose in a murine model of type 1 diabetes caused by streptozotocin (STZ). To evaluate the effect of CD4+ Th cells on diabetes, anti-CD4 were administered i.p daily for 5 days, to mice before and after the animals were given STZ. Two weeks after the last STZ-injection, the glucose tolerance test (GTT) was done by checking levels of blood glucose in the blood from the tail vein. Results showed that the deletion of CD4+Th cells (*) reduced blood-glucose levels compared to the control groups (#) given no anti-CD4 throughout the entire of 2 hr-period. Difference between the two groups at each time point were statistically significant ($P < 0.05$). This indicates that CD4+Th cell plays an important role in the pathogenesis of diabetes. Error bar: S.E.

0.05). 한편, glucose 투여 후 60분 후 실험군의 혈당은 본 실험에서 설정한 고혈당 기준인 200 mg/dl 이하로 회복하여 거의 정상에 가깝다고 할 수 있다. 반면 대조군은 정상치로의 회복이 지연되는 것을 알 수가 있다(Fig. 3). 이 결과를 통해, CD4+ T 임파구의 억제가 당뇨병 유발에 중요한 역할을 한다는 것을 확인할 수가 있다. 이는 무흉선 생쥐(Athymic mouse)와 중증복합성 면역결핍 생쥐[severe combined immunodeficiency mouse (SCID mouse)]에서는 당뇨병이 발생하지 않는다는 타 연구자의 결과에 부합 한다.^{26,27} 그렇다면, 반대로 Th1 면역반응을 우세하게 발현한다면 당뇨병은 악화가 될 수 있을 것이다. 이런 관점에서 ginsenoside Rd의 T 임파구에 대한 면역조절을 통한 당뇨병에의 영향에 대해서 검색을 하였다.

인삼배당체 Rd 투여 군의 혈당 상승 작용

인삼배당체 Rd로 처리한 실험생쥐 그룹과 음성대조군 생쥐의 당부하 검색 결과를 상호 비교해 보면, Rd로 처리한 경우에 혈

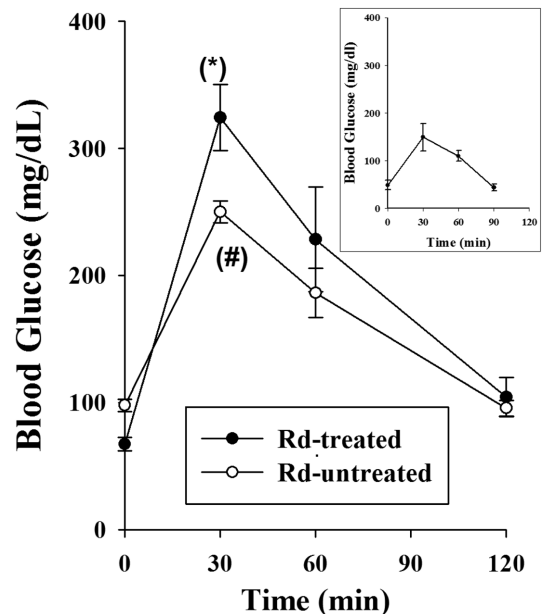


Fig. 4 – Th1-inducing ginsenoside Rd aggravates pathogenesis of diabetes. Ginsenoside Rd (50 mg/kg of body-weight) was given to diabetic mice once daily every other day for a total of 6 times. By GTT analysis, Rd-treated mice (*) had higher blood glucose levels (BGLs) compared to untreated mice (#) throughout the entire of 2 hr-period except at time point 0. At time 30 min, there was significant difference between Rd-treated (*) and Rd-untreated groups (#) ($P < 0.05$). These results confirm that ginsenoside Rd has an immunoregulatory activity of Th1. **Inset:** BGLs from normal mice groups given glucose. The glucose levels at a peak (time point=30 min) were returned into the normal range of BGLs (about 42 mg/dl) within 60 min. BGLs of normal mice (control) that received no glucose were maintained at range from 39 to 43 mg/dl (data not shown). Error bar: S.E.

당상승이 공복 혈당(Time 0)을 제외하고는 음성대조군의 혈당상승 보다 항상 높았다(Fig. 4). 일례로, 공복 30분 후 Rd를 투여한 군의 혈당 평균 수치(values)는 공복 시 평균 수치보다 약 257 mg/dl 증가한 반면에, Rd를 투여하지 않은 음성대조군에서는 약 153 mg/dl 증가하여 대략 1.7배의 차이를 보였다($P < 0.05$)(Fig. 4). 한편, 정상생쥐에게 동일한 양의 glucose를 투여하고 혈당 평균 수치를 측정된 결과, 투여 30분 후에 그 수치가 가장 높았으며, 그 후 혈당 수치는 60분 이내에 정상수준으로 회복되었다 [Fig. 4(Inset)]. Glucose를 투여하지 생쥐의 혈당 평균 수치는 약 43 mg/dl을 유지 하였다. 이 결과를 통해 인삼배당체 Rd는 혈당을 낮추는 '소위' 항 당뇨효과 대신에 오히려 혈당을 상승시켜서 고혈당증상을 유발하는 것을 알 수 있다.

고찰 및 결론

서론에서 언급하였듯이 자가 면역질환은 대부분 Th1 면역반응의 과도한 발현으로 인한 CTL에 의한 정상세포의 파괴가 원인 중의 하나로 알려져 있다.⁴⁾ 그렇다고 Th1 면역성이 항상 숙주에 해를 끼치는 것이 아니다. 이런 까닭에 특정물질의 면역조절효과를 검사할 때는 항상 상대성을 염두에 두어야 한다. 숙주의 면역계에서 Th1과 Th2의 수효의 조절은 현재까지의 보고에 의하면 Treg(CD4+CD25+ T cell)과 Th17의 상호조절에 기인하는 것으로 알려져 있는데²⁸⁾ 이런 관점에서 본 연구실에서는 Treg와 같은 유사한 작용을 하는 천연물질을 규명하기 위해서 다양한 인삼배당체들에 대한 효과를 검색해오고 있다. 타 연구자의 보고에 의하면, 인삼배당체 Rd와 Rc는 혈당을 증가하여 항 당뇨효과가 없다는 결과를 발표했지만,²⁰⁾ 작용기전에 관해서는 확실하게 규명한 것이 없다. 이 점이 본 연구에서 Rd를 선정하는 이유가 되었다. 사실, 본 연구실의 기 연구에서 인삼배당체는 탄수화물성 항원에 대한 항체생성 효과에 있어 기존의 면역보조제(CFA: complete Freund's adjuvant) 보다 더 우수한 면역보조제 효능을 가짐이 규명된바 있다.²⁹⁾ 이 결과를 고찰할 때, 인삼배당체의 CD4+ T 임파구에 대한 다각적인 연구의 필요성이 있다고 판단되었다. 그래서 본 연구에서는 이런 목적 하에 제1형 당뇨병 동물모델을 사용하여 인삼배당체 Rd의 면역조절효과를 조사하였다.

본 연구의 결과를 고찰해보면, anti-CD4 단항체로 숙주의 CD4+ T 임파구를 제거한 경우에 혈당이 감소하는 항 당뇨효과가 발현되었다. 이 결과는 예상된 결과이기도 하다. 왜냐하면 CD4+ T 임파구의 제거는 Th1와 Th2 면역반응을 모두 차단하는 의미이기 때문이다. 그렇다고 당뇨병 예방 또는 치료를 위해서 CD4+ T 임파구를 모두 제거 할 수가 없다. 간접적인 입증의 일례로, 다른 자가 면역질환인 관절염치료에 anti-CD4 단항체 요법을 적용한 적이 있는데,³⁰⁾ 면역계에 중추적인 역할을 하는 CD4+ T 임

파구의 제거는 많은 부작용을 야기하여 현재는 이 항체요법은 중단된 상태이다. 이에, CD4+ T 임파구의 존재는 유지되되 면역유도성의 조절을 통한 치료법이 유효할 것으로 사료된다.

이 점을 확실시키기 위해서, 본 연구에서는 Th-면역조절을 통해서 당뇨병을 악화시킬 수 있는 물질을 확보하고자 하였다. 이에, 인삼배당체 Rd의 Th 면역유도성을 규명한 바, 이 인삼배당체는 Th1 사이토카인들(IFN- γ , IL-2)을 더 유도생성하고 반대로 Th2 사이토카인들(IL-4, IL-10)의 생성은 억제하는 Th1 우세성 면역반응을 발현하는 것을 검색하였고(Fig. 2) 후에, 이 결과를 근거로 하여 제 1형의 당뇨병이 유도된 동물모델에서 이 인삼배당체는 혈당 상승시키는 결과를 초래함을 확인하였다. 이는 당뇨병에 관해서만은 Rd에 대한 타 연구자의 보고에 부합하는 결과이지만²⁰⁾ 지금까지 기술한 일편의 전 연구과정을 통해서 인삼배당체 Rd는 확실한 면역조절효과가 있는 중요한 소재로 간주된다. 예를 들면, Th2 면역발현 환경을 선호하는 병원균에 의한 감염 시 Rd는 감염질환치료에 효과적일 것으로 사료되지만, 확실한 연구결과가 없어 단정하기는 어렵다. 이에 감염성 동물모델(예: *Candida albicans*)을 사용하여 조사 중에 있다.

본 연구에서 부수적으로 획득된 당뇨병에 대한 연구결과를 토대로 고찰해보면, 비록 인삼배당체 Rd는 당뇨병에 효과가 없지만, 본 연구의 추론이 옳다면 Th2 반응을 유도하는 물질은 항 당뇨효과를 발현할 것으로 기대가 된다. 따라서 면역조절 작용을 통해 자가 면역 질환인 제1형 당뇨병의 치료와 예방에 접근한다면 후보 소재로서 개발이 가능한 천연물의 탐색이 이루어질 것이라 생각한다. 이런 일환으로, 현재 Th2의 면역성을 유도하는 물질을 사용하여 항 당뇨효과를 검색 중에 있는데, 초기 연구 결과는 매우 고무적인 것으로 평가가 되고 있다.

감사의 말씀

본 연구는 한국연구재단을 통해 교육과학기술부의 기초연구사업으로부터 지원받아 수행 되었습니다(No. 2011-0009339).

참고문헌

- 1) Nakayamada, S., Takahashi, H., Kanno, Y. and O'Shea, J. J. : Helper T cell diversity and plasticity. *Curr. Opin. Immunol.* **24**, 297 (2012).
- 2) Mosmann, T. R., Cherwinski, H., Bond, M. W., et al. : Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J. Immunol.* **136**, 2348 (1986).
- 3) Parris, K. : Th1/Th2 Balance: The Hypothesis, its Limitations, and Implications for Health and Disease. *Alternative Medicine Review* **8**, 3 (2003).

- 4) Yoon, J.-W. and Jun, H.-S. : Autoimmune Destruction of Pancreatic β cells *American Journal of Therapeutics* **12**, 580 (2005).
- 5) Bhagirath Singh, Enayat Nikoopour, Katrina Huszarik, John F. Elliott and Anthony M. Jevnikar : Immunomodulation and regeneration of islet beta cells by cytokines in autoimmune type 1 diabetes. *Journal of Interferon & Cytokine Research* **31**, 10 (2011).
- 6) Lee, M.-S. and Kim, K.-A. : Type 1 diabetes mellitus. *J. Korean Med. Assoc.* **52**, 677 (2009).
- 7) Abi Khalil, C., Roussel, R., Mohammadi, K., Danchin, N. and Marre, M. : Cause-specific mortality in diabetes: recent changes in trend mortality. *Eur. J. Prev. Cardiol.* **19**, 374 (2012).
- 8) Johnson, P. R. and Jones, K. E. : Pancreatic islet transplantation. *Semin. Pediatr. Surg.* **21**, 272 (2012).
- 9) Noguchi, H. : Pancreatic islet transplantation. *World J. Gastrointest Surg.* **1**, 16 (2009).
- 10) Corbett, J. A. : K cells: a novel target for insulin gene therapy for the prevention of diabetes. *Trends Endocrinol. Metab.* **12**, 140 (2001).
- 11) Encina, G., Ezquer, F., Conget, P. and Israel, Y. : Insulin is secreted upon glucose stimulation by both gastrointestinal enteroendocrine K-cells and L-cells engineered with the preproinsulin gene. *Biol. Res.* **44**, 301 (2011).
- 12) Sanlioglu, A. D., Altunbas, H. A., Balci, M. K., Griffith, T. S. and Sanlioglu, S. : Insulin gene therapy from design to beta cell generation. *Expert. Rev. Mol. Med.* **10**, 1017 (2012).
- 13) Domínguez-Bendala, J., Lanzoni, G., Inverardi, L. and Ricordi, C. : Concise review: mesenchymal stem cells for diabetes. *Stem. Cells Transl. Med.* **1**, 59 (2012).
- 14) Li, L., Gu, W. and Zhu, D. : Novel therapy for type 1 diabetes: Autologous hematopoietic stem cell transplantation. *J. Diabetes.* **4**, 332 (2012).
- 15) Hsin-Yi Hung, Keduo Qian, Susan L. Morris-Natschke, Chau-Shim Hsu and Kuo-Hsiung Lee : Recent discovery of plant-derived anti-diabetic natural products *Nat. Prod. Rep.* **29**, 580 (2012).
- 16) Geetha, G., Kalavalarasariel Gopinathapillai, P. and Sankar, V. : Anti diabetic effect of *Achyranthes rubrofusca* leaf extracts on alloxan induced diabetic rats. *Pak. J. Pharm. Sci.* **24**, 193 (2011).
- 17) Shen, Y., Fukushima, M., Ito, Y., Muraki, E., Hosono, T., Seki, T. and Ariga, T. : Verification of the antidiabetic effects of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) using insulin-uncontrolled type 1 diabetic rats and cultured adipocytes. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **74**, 2418 (2010).
- 18) Shibata, S. : Chemistry and cancer preventing activities of ginseng saponins and some related triterpenoid compounds. *J. Korean Med. Sci. Suppl.* S28 (2001).
- 19) Hong, Y. J., Kim, N., Lee, K., Hee Sonn, C., Eun Lee, J., Tae Kim, S., Ho Baeg, I. and Lee, K. M. : Korean red ginseng (*Panax ginseng*) ameliorates type1 diabetes and restores immune cell compartments. *Journal of Ethnopharmacology* **144**, 225 (2012).
- 20) Park, M. J., Bae, C. S., Lim, S. K., Kim, D. I., Lim, J. C., Kim, J. C., Han, H. J., Moon, J. H., Kim, K. Y., Yoon, K.-C. and Park, S. H. : Effect of protopanaxadiol derivatives in high glucose-induced fibronectin expression in primary cultured rat mesangial cells: Role of mitogen-activated protein kinases and akt. *Arch. Pharm. Res.* **33**, 151 (2010).
- 21) Kimura, M., Waki, I., Tanaka, O., Nagai, Y. and Shibata, S. : Pharmacological sequential trials for the fractionation of components with hypoglycemic activity in alloxan diabetic mice from ginseng radix. *J. Pharmacobiodyn.* **4**, 402 (1981).
- 22) Shezard, O., Ha, I. J., Park, Y., Ha, Y. W. and Kim, Y. S. : Development of a rapid and convenient method to separate eight ginsenosides from *Panax ginseng* by high-speed countercurrent chromatography coupled with evaporative light scattering detection. *J. Separation Sci.* **34**, 1116 (2011).
- 23) Lin, M., Yin, N., Murphy, B., Medof, M. E., Segerer, S., Heeger, P. S. and Schröppel, B. : Immune cell-derived c3 is required for autoimmune diabetes induced by multiple low doses of streptozotocin. *Diabetes.* **59**, 2247 (2010).
- 24) Ventura-Sobrevilla, J., Boone-Villa, V. D., Aguilar, C. N., Román-Ramos, R., Vega-Avila, E., Campos-Sepúlveda, E. and Alarcón-Aguilar, F. : Effect of varying dose and administration of streptozotocin on blood sugar in male CD1 mice. *Proc. West. Pharmacol. Soc.* **54**, 5 (2011).
- 24) Xie, J. T., Mehendale, S. R., Wang, A., Han, A. H., Wu, J. A., Osinski, J. and Yuan, C. S. : American ginseng leaf: ginsenoside analysis and hypoglycemic activity. *Pharmacol. Res.* **49**, 113 (2004).
- 25) Ogawa, M., Maruyama, T., Hasegawa, T., et al. : The inhibitory effect of neonatal thymectomy on the incidence of insulinitis in non-obese diabetes (NOD) mice. *Biomed. Res.* **6**, 103 (1985).
- 26) Christianson, S. W., Shultz, L. D. and Leiter, E. H. : Adoptive transfer of diabetes into immunodeficient NOD-scid/scid mice. Relative contributions of CD4+ and CD8+ T-cells from diabetic versus prediabetic NOD.NON-Thy-1a donors. *Diabetes.* **24**, 44 (1993).
- 27) Makoto Miyara, Guy Gorochov, Michael Ehrenstein, Lucile Musset, Shimon Sakaguchi and Zahir Amoura : Human FoxP3+ regulatory T cells in systemic autoimmune diseases. *Autoimmunity Reviews* **10**, 744 (2011).
- 28) Joo, I., Kim, H., Kim, J., Lee, J. Y., Omer, S., Kim, Y. S. and Han, Y. : Immunoadjuvant effects of ginsenosides Rd and Rg1 *Yakhak Hoeji* (2012). (submitted).
- 29) Choy, E. H., Kingsley, G. H. and Panayi, G. S. : Monoclonal antibody therapy in rheumatoid arthritis. *Br. J. Rheumatol.* **37**, 484 (1998).