

육계에서 가시오갈피 급여에 따른 생산성, 혈액 생화학적 성상 및 면역 사이토카인 발현에 미치는 영향

장인석[†] · 문양수 · 손시환
경남과학기술대학교 동물생명과학과

Effect of Supplementation of *Acanthopanax senticosus* on Growth Performance, Blood Biochemical Profiles and Expression of Pro-Inflammatory Cytokines in Broiler Chicks

In-Surk Jang[†], Yang Soo Moon and Sea Hwan Sohn

Dept. of Animal Science and Biotechnology, the Regional Animal Research Center (RAIC),
Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinju 52725, Korea,

ABSTRACT This study was performed to examine the effects of dietary *Acanthopanax senticosus* (AS) on growth performance, immune organ weights, blood biochemical parameters and the expression of pro-inflammatory cytokines in broiler chicks. A total of 120 4-day-old birds were given a basal diet (CON) or a basal diet supplemented with 0.5% (AS1) or 1.0% (AS2) AS powder until the birds were 35 days of age. There was no difference in body weight, total gain, feed intake or immune organ weights among the treatment groups. However, the feed conversion ratio in the AS2 group was lower ($p < 0.05$) than that in the CON group. Serum biochemical components, including AST (aspartate aminotransferase), ALT (alanine aminotransferase), albumin and total protein, were not affected by the dietary treatments, whereas glucose and triglyceride levels increased ($p < 0.05$) in the AS2 group compared with the CON group. The AS1 group exhibited decreased mRNA expression ($p < 0.05$) of IFN- γ in white blood cells and iNOS in the liver compared with the CON group. The other pro-inflammatory cytokines were unaffected by dietary AS supplementation, although there was a trend towards decreased expression of these genes, including those encoding IL-1 β , IL-6 and TNF- α . In conclusion, dietary supplementation with 0.5% AS decreased the expression of several pro-inflammatory cytokines without affecting growth performance, suggesting that this supplement might be applicable as an immunoregulatory feed additive in broiler chicks.

(Key words: *Acanthopanax senticosus*, blood biochemical profiles, pro-inflammatory cytokines)

서 론

최근 축산물 생산 시스템에서 식품안전성, 기능성 및 동물복지에 입각한 건강 지향적 친환경 사육방법이 많은 주목을 받고 있다. 따라서 축산물 생산자도 가축의 생산성을 향상시키는 방법과 동시에 환경 친화적 사육방법에 대한 기술 개발에 많은 노력을 기울이고 있다. 특히 육계산업은 과도한 사육밀도 등과 같은 환경스트레스와 빠른 성장에 기초한 육종개량에 의해 체내 항상성 유지 실패에 따른 면역 저하로 질병의 발생이 경쟁력을 악화시키는 주요한 원인으로 지

적되고 있다(Zuidhof et al., 2014). 따라서 사료첨가용 항생제 사용이 금지된 시대적 흐름에 따라 기능성을 부여하고, 면역력을 증가시키는 천연 생리활성물질에 대한 다양한 연구가 진행되고 있다.

면역증강 사료첨가제로서 β -glucan, 다당체(prebiotics), 생리활성오일(essential oils), 식물추출물 등이 대한 많은 연구가 진행되고 있으며, 친환경적 소재로서 관심이 고조되고 있다(Huyghebaert et al., 2011; Wenk, 2000). 특히 천연식물성 생리활성 소재로서 polyphenol 화합물이 다량 함유된 유카, 강황, 구기자, 감초, 매실, 후추, 계피, 오레가노, 헤조류 등 다

[†] To whom correspondence should be addressed : isjang@gntech.ac.kr

양한 물질이 면역을 증가시키는 것으로 알려지고 있다(Abou-Elkhair et al., 2014; Gallois et al., 2009; Jang et al., 2013; Kim et al., 2015).

이와 같은 식물유래 천연물은 인체 연구에서 이미 그 효능이 밝혀져 있고, 이러한 것들 중에서 가시오갈피(*Acanthopanax senticosus*)는 국내에 널리 자생하고 있는 식물로서 flavonoid, coumarin, steroid, triterpene, lignan, saponin 등 polyphenolic 계열의 항산화 성분을 다량 함유하고 있다(Davydov and Krikorian, 2000; Jin et al., 2002). 그 동안 가시오갈피 효능 연구는 항산화 작용에 집중적으로 이루어져 왔다(Lee et al., 2004; Kang et al., 2009; Wang et al., 2010). 최근에는 가시오갈피의 주요 성분인 다당체와 항산화 물질이 면역작용을 촉진하는 사실이 밝혀지면서 면역세포에서 분비되는 사이토카인(cytokines) 분비조절에 대한 *in vitro* 연구가 실시되었다(Schmolz et al., 2001; Yoon et al., 2004). Chen et al. (2011)은 가시오갈피에서 추출한 다당류 성분이 림프구 증식 등 면역증강 작용을 한다는 *in vitro* 실험결과를 발표하여 면역증강 식품 또는 의약품으로 이용할 수 있는 가능성을 보고하였다.

따라서 본 연구는 천연항산화 생리활성 소재를 함유한 가시오갈피를 사료첨가제로서 사용 가능성을 조사하기 위해 육계에게 0.5 및 1.0% 수준으로 급여하여 생산성, 면역장기 무게, 혈액 생화학적 성장 및 면역 사이토카인 발현 양상을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 시험동물, 사료 및 사양관리

본 시험에 공시된 실험동물은 (주)올팜에서 구입한 육계 수컷(Ross 308)로서 4일령에 3개 처리구에 케이지 당 4수씩 (n=10, 각 처리구당 40수) 모두 120수를 배치하였다. 실험용 기초사료는 상업용 육계사료를 이용하였으며, 가시오갈피 (*Acanthopanax senticosus*) 경남 산청지역에서 생산된 것으로 푸른 잎 부분을 수거하여 50℃에서 건조시킨 후, 가는 입자로 분쇄(Perten 3600, Sweden; 20 mesh)한 후 사용하였다. 가시오갈피의 첨가수준(w/w)은 0.5%(AS1) 및 1.0%(AS2)로서 일반사료에 완전히 혼합하여 시험에 이용하였다. 실험사료의 조성화학적 성분은 옥수수, 밀, 대두박 위주로 배합하고, 화학적 조성으로 육계 전기사료는 조단백질 21.0%, 대사 에너지 3.10 Mcal/kg, 조지방 4.80%, 조섬유 4.30%, 조회분 5.0%로 구성되었으며, 후기 사료는 조단백질 19.0%, 대사 에너지 3.20 Mcal/kg, 조지방 5.2% 조섬유 3.9%, 조회분 4.9%

가 함유되도록 배합하였다. 사양관리에서 점등은 전 사양기간 동안 24시간 종일 점등을 실시하고, 계사온도는 일령별로 32℃에서 22℃까지 본 대학교의 사육실 온도관리 프로그램에 따라 조절하였다.

2. 시험분석 항목 및 방법

1) 체중 및 사료섭취량 측정

체중 측정은 시험 개시(4일령), 21일령 및 시험 종료(35일령)에 정해진 시간에 체중을 측정하였다. 본 사양시험동안 사료섭취량을 조사하여 사료요구율을 계산하였다.

2) 시험샘플 채취

사양시험 종료 후 각 처리구 당 평균체중에 가까운 8수 모두 24수에서 선별하여 경정맥을 절개하여 sodium heparin이 함유된 진공 시험관에 혈액을 채취하였다. 일부 전혈은 즉시 백혈구 분리에 사용하였고, 혈액 생화학 성분 분석을 위한 혈청은 전혈을 1,500 g에서 20분간 원심분리하여 획득한 후 -70℃에 냉동 보관한 후 분석에 이용하였다. 장기의 무게와 샘플 채취는 복강을 절개하여 간, 비장, 흉선 및 F-낭 등의 무게를 측정하고, 액체질소에 냉동하여 -70℃에 보관 후 분석에 사용하였다.

3) 혈장 생화학적 성분 분석

혈장 albumin, total protein, triglyceride, cholesterol, glucose, AST(aspartate aminotransferase) 및 ALT(alanine aminotransferase) 분석은 자동혈액생화학분석기(Hitachi 747, Japan)로서 실시하였다.

4) 사이토카인 mRNA 발현

(1) 백혈구 Total RNA 분리

공시동물(n=5)의 백혈구 RNA 분리를 위해 혈액 3 mL를 0.9% NaCl과 혼합하고, Lymphocyte Separation Medium(LSM, Mediatech, Inc. VA, USA)을 넣어 원심분리(400 g, 20분)하였다. 이어서 백혈구 층과 LSM 층 50% 정도를 흡입하여 동량의 0.9% NaCl을 첨가 후 원심(200 g, 20분)하고 생리식염수로서 세척하여 pellet(백혈구)를 분리하였다. 백혈구 total RNA는 QIAamp RNA Blood Mini Kit(QIAGEN Inc. CA, USA)를 사용하여 분리하였다. 먼저 EL buffer에 백혈구를 혼합하여 10분간 원심하고, 상청액을 제거 후 RLT buffer를 넣은 뒤 잘 혼합하여 spin column에서 원심(10,000 g, 2분)하였다.

다시 균질액에 70% alcohol을 혼합하여 spin column에 넣은 뒤 원심(8,000 g, 1분) 후 RW1 buffer로 2회 세척하였다. 이어서 RPE buffer로서 2회, RNase free water로서 원심분리(10,000 g, 1분)하여 total RNA를 추출하였다.

(2) 비장 및 간 조직 Total RNA 분리

육계(n=5)의 비장과 간 조직을 액체질소에 넣어 분쇄한 후 Trizol(Invitrogen, USA)을 넣고, 5분간 배양시킨 후 Trizol 1 mL당 chloroform 0.2 mL를 혼합하고 2분 반응시켰다. 반응물을 12,000 g(4°C, 15분)에서 원심분리한 후 상층액에 iso-propanol 0.5 mL를 첨가하고, 10 분간 반응시켰다. 다시 반응물을 12,000 g(4°C, 10분)에서 원심분리한 후 RNA를 획득하고, 분광광도계(Nanodrop tech. Inc. USA)를 이용하여 농도를 측정하였다.

(3) cDNA 합성

Reverse transcription system(Promega, USA)을 이용하였으며, primer는 oligo(dT)를 이용하였다. 반응과정은 RNA 1.5 µg, buffer 4 µL, MgCl₂(25 mM) 3 µL, dNTP(2.5 mM) 1 µL, reverse transcriptase 1 µL, primer 0.5 µL를 혼합하여 전체 용량을 DEPC로 20 µL로 조정하여 25°C에서 5분간 접합과정과 42°C에서 60분간 확장과정을 통하여 cDNA를 합성하고, 70°C에서 15분간 열처리를 하여 역전사 효소를 불활성화하였다.

(4) Real Time-PCR을 이용한 mRNA 발현

본 시험에 사용된 면역 cytokines 염기서열 정보는 Table 1에 제시한 바와 같고, Real-time PCR은 MyiQ(BIO-RAD, USA)을 사용하였다. 먼저 cDNA 1 µL, primer(5 pmole)는 각각 0.5 µL, SYBR Green 10 µL, DEPC H₂O 8 µL 반응물을 94°C, 5분간 최초 변성을 시키고, 94°C, 15초간 두 번째 변성, 각각 유전자에 맞는 접합 온도를 30초간 접합과 확장과정을 72°C, 30초간 실시하였다. 그 후 94°C 1분간 재 접합과정과 55°C에서 1분간 재 확장과정을 실시하였다. 최종적으로 유전자간 설정한 접합온도에서 94°C까지 0.5°C씩 상승하면서 94°C에 이를 때까지의 형광 접합물질인 SYBR Green 분리 과정을 수행하였다. 유전자 발현의 상대적 발현량은 Livak and Schmittgen(2001)의 방법에 따라 ΔCt 와 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 를 계산하였다.

3. 통계처리

가시오갈피 급여에 따른 모든 결과는 Proc-GLM(SAS, 1996)에 의해 분산분석을 실시하였으며, 처리 간 비교는 Tukey 방법에 의해 95% 수준에서 유의성 검정을 하였다.

결과 및 고찰

1. 생산성 및 면역장기의 변화

가시오갈피 첨가급여에 따른 육계의 사양성적 결과(Table 2)를 보면 육계전기(4~21일령)에서는 모든 구에서 비슷한 수준의 체중 및 증체율을 나타내었으나, 사료요구율은 AS2

Table 1. Sequences of primers used in Real-time PCR

Item	Direction	Sequence (5' to 3')	Product size (bp)
TNF-α	Forward	GAA CTA TCC TCA CCC CTA CC	223
	Reverse	TGA CTC ATA GCA GAG ACG TG	
iNOS	Forward	GCA TCC AAA ATA TGA GTG GT	274
	Reverse	AAG CAC AGC CAC ATT TAT CT	
IFN-γ	Forward	TTC CTT CAT TTT CCT CTT GA	223
	Reverse	ACT GGA AAA CAC AAG GTC AC	
IL-1β	Forward	GCT CTA CAT GTC GTG TGT GA	167
	Reverse	TGT CGA TGT CCC GCA TGA	
IL-6	Forward	GCT CGC CGG CTT CGA	188
	Reverse	GGT AGG TCT GAA AGG CGA AC	
β-Actin	Forward	CAA AGC GCT CGATTT CAT CGC	180
	Reverse	TCT CTT CCA CGG AGA TGT CCT	

Table 2. Effect of dietary supplementation of *Acanthopanax senticosus* on growth performance, feed intake and feed conversion ratio (FCR) in broiler chicks

Item	Diets*			
	CON	AS1	AS2	
Initial BW	69.38±0.72	70.14±0.69	69.38±0.49	
4~21 days	BW	807.29±11.78	811.19±42.37	774.06±49.21
	Gain	737.92±11.98	741.05±42.06	704.69±49.08
	FI	1,118.96±17.42 ^b	1,305.96±65.88 ^a	1,288.61±77.36 ^a
	FCR	1.52±0.02 ^b	1.77±0.06 ^{ab}	1.84±0.04 ^a
22~35 days	BW	2,035.00±46.55	2,016.79±54.54	1,893.91±45.93
	Gain	1,227.71±36.61	1,205.60±81.72	1,119.84±41.63
	FI	1,735.94±56.14	1,774.41±58.57	1,797.88±90.53
	FCR	1.42±0.06	1.50±0.08	1.63±0.13
4~35 days	Total gain	1,965.63±46.83	1,946.64±54.32	1,824.53±45.93
	Total FI	2,854.90±64.83	3,129.52±122.94	3,135.69±183.85
	Total FCR	1.46±0.04 ^b	1.61±0.05 ^{ab}	1.72±0.10 ^a

* CON (basal diet), AS1 (basal diet supplemented with 0.5% *Acanthopanax senticosus*) and AS2 (basal diet supplemented with 1.0% *Acanthopanax senticosus*).

^{ab} Values (mean±S.D., n=10) with different superscripts differ significantly ($p<0.05$) among treatments.

This table was partially adopted from the our previous published data (Kang et al., 2009).

에서 대조구에 비해 유의적($p<0.05$)으로 저하되었다. 육계후기(22~35일령)의 결과는 체중, 증체, 사료섭취량과 사료요구율 등 모든 지표에서 처리구별 차이가 없었다. 전 사육기간(4~35 일령)의 사양성적을 살펴보면 증체 및 사료섭취량은 유의적 차이를 보이지 않았으나, AS2구에서 대조구와 비교 시 사료요구율이 유의적으로($p<0.05$) 저하되었다. 이상의 결과로 보아 저 수준(0.5%)의 가시오갈피 첨가사료는 생산성에 부정적인 영향 없이 생리활성 소재로 사용될 수 있을 것으로 보인다.

가시오갈피 급여에 따른 육계의 면역장기 무게를 조사한 결과(Table 3), 간, 비장 및 흉선 무게는 모든 구에서 유사한 결과를 나타내어 가시오갈피 급여가 면역관련 장기의 무게에는 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

천연식물성 소재를 이용한 기능성 축산물 생산 또는 항생제 대체 사료첨가제 개발에 대한 많은 연구가 실시되고 있는데, 본 시험 결과는 매실추출물 또는 매실분말을 육계에게 급여한 시험에서 생산성과 간, 비장과 F-낭과 같은 면역장기의 무게에도 변화가 없었다고 보고한 경우와 유사하다(Jang et al., 2013). 또한 0.2% 수준의 오미자를 육계에게 급여한

Table 3. Effect of dietary supplementation of *Acanthopanax senticosus* on the relative organ weights of broiler chicks

Item (g/100g BW)	Diets*		
	CON	AS1	AS2
Liver	2.26±0.10	2.35±0.25	2.26±0.11
Spleen	0.13±0.01	0.15±0.03	0.12±0.02
Thymus	0.25±0.02	0.36±0.08	0.30±0.03
Fabricius	0.18±0.02	0.25±0.02	0.26±0.03

* CON (basal diet), AS1 (basal diet supplemented with 0.5% *Acanthopanax senticosus*) and AS2 (basal diet supplemented with 1.0% *Acanthopanax senticosus*).

Values are presented as mean±S.D. (n=8).

결과, 역시 생산성과 간을 포함한 장기조직의 무게에는 아무런 차이가 없었다(Ko et al., 2012). 한편, Ko et al.(2010)은 호박분말을 2.5% 및 5.0% 첨가하여 육계에게 급여한 결과, 5.0% 급여구에서 사료이용성이 감소되고, 간의 무게가 감소되었음을 보고하였다. 일반적으로 천연물에 다량 함유된 항영양인자 성분이 장기의 무게에 영향을 미칠 수 있는 것으로

Diallo et al.(2014)에 의하면 국화과(*Ageratum conyzoides*)의 잎 추출물을 쥐에게 급여하였을 때 간 및 비장의 무게를 증가시킨다고 보고되고 있다. 그러나 감초와 용구가 혼합된 생약제를 육계에 급여한 결과, 오히려 증체량의 개선이 있었다고 보고하였다(Cho et al., 2009). 따라서 식물생리활성 사료 첨가제는 육계 생산성과 면역장기에 미치는 영향은 시험에 사용한 식물의 종류 및 첨가 수준 등에 따라 결과가 상이한 것으로 보이며, 본 연구에서 0.5% 수준의 가시오갈피 급여는 생산성과 장기무게에 영향을 미치지 않았다.

2. 혈액 생화학적 성상

가시오갈피 첨가에 따른 육계의 혈액 생화학적 성분에 대한 결과를 보면(Table 4), albumin, total protein, cholesterol, AST 및 ALT 등과 같은 생화학 성분은 대조구와 처리구(AS1 및 AS2) 모두 비슷한 값을 보였다. 그러나 triglycerides는 대조구에 비해 AS2구에서 현저히($p<0.05$) 높았고, glucose 수준 역시 대조구에 비해 가시오갈피 급여구에서 현저히($p<0.05$) 증가되었다.

이러한 결과는 Al-Kassie et al.(2011)이 식물성 소재로서 후추 0.5, 0.75 및 1.0% 육계에 급여 시 혈중 glucose 농도가 증가되었다고 보고한 반면, Abou-Elkhair et al.(2014)은 후추 0.5%, 강황 0.5%, 고수(Coriander seeds) 0.5%를 급여 시 glucose 농도가 변화가 없거나 오히려 감소되었다는 보고 등 서로 다른 결과를 보이고 있다. 본 시험에서 가시오갈피 급

Table 4. Effect of dietary supplementation of *Acanthopanax senticosus* on blood biochemical profiles in broiler chickens

Item	Diet*		
	CON	AS1	AS2
Albumin (g/dL)	1.2±0.03	1.2±0.04	1.2±0.05
Total protein (g/dL)	3.8±0.24	3.3±0.11	3.4±0.09
Triglyceride (mg/dL)	19.3±1.51 ^b	19.8±1.28 ^b	29.4±3.39 ^a
Cholesterol (g/dL)	147.7±5.94 ^b	160.0±6.45	169.9±9.41
Glucose (mg/dL)	216.9±5.64 ^b	256.0±10.76 ^a	254.1±6.34 ^a
AST (IU/μL)	305.1±25.01	309.2±25.46	302.7±16.81
ALT (IU/μL)	3.6±0.30	3.3±0.42	3.4±0.37

* CON (basal diet), AS1 (basal diet supplemented with 0.5% *Acanthopanax senticosus*) and AS2 (basal diet supplemented with 1.0% *Acanthopanax senticosus*).

^{ab} Values (mean±S.D., n=8) with different superscripts differ significantly ($p<0.05$) among treatments.

여구에서 혈중 glucose 또는 triglycerides 수준이 증가된 명확한 이유는 설명하기 어렵지만 가시오갈피 급여 시 일부 친염증 사이토카인의 발현이 감소되어 백혈구 면역작용에 요구되는 에너지 소모가 감소한 것이 원인 중의 하나로 추론할 수 있다.

간 조직 손상 지표로 이용되는 혈액 AST는 간, 근육 등의 조직에서 대사작용에 관여하는 효소로서 간 조직이 파괴되면 혈액으로 유실되어 농도가 현저히 증가되므로 간 손상지표가 된다(Giannini et al., 1999). ALT는 간세포의 미토콘드리아에 있는 효소로서 대사 또는 독성물질에 의해 조직이 손상될 경우 혈액으로 유출된다(Koo et al., 1998). 가시오갈피 급여에 따른 간 기능 수치는 정상으로 0.5~1.0% 수준의 가시오갈피 급여는 육계의 간 조직에 부정적인 영향이 없는 것으로 사료된다.

3. 친염증 사이토카인(Pro-Inflammatory Cytokines) mRNA 발현

가시오갈피 급여에 따른 육계의 백혈구, 비장 및 간 조직에서 친염증 사이토카인 mRNA 발현은 Table 5에 나타난 바와 같다. 백혈구에서 IFN- γ mRNA 발현이 가시오갈피 급여에 따라 현저히($p<0.05$) 감소되었으며, IL1- β , IL-6, TNF- α , iNOS 등은 유의적 차이는 없었지만, 발현이 감소되는 경향을 보였다. 비장에서 대부분 친염증 사이토카인 발현은 가시오갈피 급여에 따라 감소되는 경향을 보였지만, 유의적 차이는 관찰되지 않았다. 간 조직에서는 0.5% 가시오갈피 급여에 따라 iNOS mRNA 발현이 유의적으로($p<0.05$) 감소하였고, 대부분의 친염증 사이토카인 발현이 가시오갈피 급여에 따라 유의적 차이 없이 감소되는 경향을 보였다.

닭은 내·외적 환경에 따라 면역작용을 개시하는데 백혈구, 비장, 간 등이 중요한 면역기관으로 특히 후천성 면역(acquired immunity)은 T-세포와 B-세포가 그 기능을 수행한다(Krover, 2012). 특히 T-세포는 세포 매개성 면역작용으로 사이토카인을 생성하여 세포사를 유발하고, 대식세포를 유인하여 식작용을 유발하는 대표적인 적응성 면역작용을 담당한다(Krover, 2012). 사이토카인 중에서 친염증 사이토카인은 감염부위에 면역세포 작용을 활성화시키는 유전자로서 IL1- β , IL-6, IL-12, IL-18, TNF- α , IFN- γ 등이 존재한다. iNOS는 산화질소(NO)를 생산하는데 여러 원인에 의해 과다 생성 시 면역세포에서 ROS(Reactive oxygen substance)를 발생시켜 친염증 사이토카인과의 상호작용을 통해 세포를 손상시킨다(Guzik et al., 2003). 이러한 면역반응 과정에서 염증 발생 기전은 활성산소와 지질 과산화 작용에 따른 산화 스

Table 5. Effect of dietary supplementation of *Acanthopanax senticosus* on mRNA expression of pro-inflammatory cytokines in immune-related organs of broiler chicks

Item	Diet*						
	CON		AS1		AS2		
	ΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	ΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	ΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	
White blood cells	IL1- β	1.48 \pm 0.86	1	4.61 \pm 1.94	0.37	4.13 \pm 1.71	0.16
	IL-6	4.82 \pm 0.98	1	6.75 \pm 2.18	0.26	7.08 \pm 1.67	0.21
	IFN- γ	3.80 \pm 0.98 ^b	1	5.21 \pm 0.41 ^a	0.38	5.25 \pm 0.58 ^a	0.37
	TNF- α	5.18 \pm 2.31	1	7.21 \pm 0.67	0.24	7.55 \pm 0.10	0.19
	iNOS	3.22 \pm 0.19	1	3.75 \pm 0.73	0.69	3.58 \pm 0.97	0.78
Spleen	IL1- β	5.62 \pm 1.13	1	5.72 \pm 1.36	0.93	6.31 \pm 0.65	0.62
	IL-6	6.07 \pm 1.33	1	6.52 \pm 0.98	0.73	6.59 \pm 0.95	0.69
	IFN- γ	5.07 \pm 0.40	1	5.04 \pm 0.62	1.02	5.41 \pm 1.06	0.79
	TNF- α	4.01 \pm 1.43	1	5.08 \pm 0.53	0.47	5.07 \pm 0.66	0.48
	iNOS	1.35 \pm 1.40	1	1.34 \pm 0.98	1.00	1.41 \pm 0.84	0.96
Liver	IL1- β	6.20 \pm 1.75	1	7.14 \pm 1.06	0.62	6.80 \pm 0.72	0.69
	IL-6	8.16 \pm 1.65	1	9.26 \pm 0.94	0.47	9.16 \pm 0.25	0.50
	IFN- γ	6.40 \pm 0.19	1	6.10 \pm 0.80	1.23	6.35 \pm 0.92	1.04
	TNF- α	1.20 \pm 0.89	1	1.88 \pm 0.99	0.62	1.74 \pm 0.80	0.69
	iNOS	2.40 \pm 0.32 ^b	1	3.30 \pm 0.68 ^a	0.54	2.92 \pm 0.26 ^{ab}	0.70

* Con (control), AS1 (*Acanthopanax senticosus*, 0.5%) and AS2 (*Acanthopanax senticosus*, 1.0%).

The values are ΔCt , which is represented as the Ct of each target gene corrected by Ct of the control gene (β -actin). The fold difference in the relative expression of the target gene was calculated as the $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

^{ab} Values (n=5) with different superscripts differ significantly ($p<0.05$) among treatments.

트레스가 중요한 원인 중의 하나로서 알려져 있다(Macdonald et al., 2003).

따라서 polyphenol 화합물이 다량 함유된 가시오갈피를 육계에게 급여할 경우, 산화 스트레스를 억제하여 친염증 사이토카인 유전자 등과 같은 면역작용에 영향을 미칠 수 있다. 가시오갈피를 이용하여 면역작용에 미치는 영향을 조사한 연구결과에서 사이토카인 발현이 감소된 경우(Han et al., 2014; Lin et al., 2007)와 반대로 증가된 경우(Yoon et al., 2004; Schmolz et al., 2001)로 크게 구분된다. 스트레스 상황에서 친염증 사이토카인의 발현 증가는 면역방어 작용에 중요한 역할을 수행할 수 있지만, 과도한 친염증 사이토카인의 발현은 오히려 에너지 소모로 증가시켜 생산성 등에 부정적인 영향을 미치므로(Krover, 2012) 사이토카인의 과도한 발현보다는 균형된 조절이 면역 및 성장에서 매우 중요하다. 본 시험결과, 가시오갈피 급여 시 육계의 백혈구 및 간 조직

에서 IFN- γ 또는 iNOS 등과 같은 일부 친염증 사이토카인 mRNA 발현이 감소되었다. Lin et al.(2008)은 가시오갈피 추출물을 RAW264.7 대식세포주에 주입하였을 때 과산화물이 현저히 감소되고, iNOS 발현이 유의하게 감소되었다고 보고하였다. 이러한 사실로 보아, 가시오갈피에 함유된 항산화 화합물이 친염증 사이토카인 발현의 감소를 유도한 것으로 보인다(Lin et al., 2008). Kang et al.(2009)이 가시오갈피를 육계에게 급여하여 간 조직에서 항산화 효소의 발현을 조사한 결과에서도 glutathione peroxidase 발현이 현저히 증가하였다는 사실이 이를 뒷받침한다. 이와 유사하게 비타민 A, E, 코엔자임 Q10 및 proanthocyanidins 등과 같은 자연계에 널리 존재하는 항산화제 역시 마우스에서 IL1- β , IL-2, IL-6, TNF- α , IFN- γ 등과 같은 친염증 사이토카인 발현을 억제시키는 것으로 보고되었다(Li et al., 2001; Novoselova et al., 2009). 따라서 육계에서 가시오갈피 급여 시 항산화 작용에 의해 일

부 친염증 사이토카인 발현에 영향을 미쳐 적응성 면역작용과 에너지 대사에 영향을 미칠 수 있는 것으로 보인다.

이러한 결과로 종합하면 천연생리활성 사료첨가제로서 0.5% 수준의 가시오갈피 급여는 생산성에 부정적인 영향 없이 효과적으로 사용될 수 있을 것으로 판단된다.

적 요

본 연구는 천연항산화 생리활성 소재로서 가시오갈피를 육계에게 0(CON), 0.5(AS1) 및 1.0%(AS2) 수준으로 급여하여 생산성, 면역장기 무게, 혈액 생화학적 정상 및 친염증 사이토카인 mRNA 발현에 미치는 영향을 조사하였다. 전 사육기간에서 가시오갈피 급여에 따른 체중, 증체 및 사료섭취량은 유의적 차이를 보이지 않았으나, AS2구에서 사료요구율이 유의적으로($p<0.05$) 저하되었다. 면역장기 무게를 관찰한 결과, 간, 비장, F-낭 및 흉선 무게는 가시오갈피 급여에 따른 영향이 없었다. 혈액 생화학적 성분에서 albumin, total protein, cholesterol, AST, ALT 등과 같은 대부분의 성분은 대조구와 처리구간 차이는 없었다. 그러나 triglycerides는 대조구에 비해 AS2구에서 현저히($p<0.05$) 높았고, glucose 수준은 대조구에 비해 가시오갈피 급여구에서 현저히($p<0.05$) 증가되었다. 친염증 사이토카인 mRNA 발현을 조사한 결과, 가시오갈피 급여에 따라 백혈구의 IFN- γ mRNA 발현이 현저히($p<0.05$) 감소되었으며, IL1- β , IL-6, TNF- α , iNOS 등은 유의적 차이는 없었지만, 감소되는 경향이 있었다. 비장에서 친염증 사이토카인 발현은 유의적 차이가 없었다. 간 조직에서는 0.5% 가시오갈피 급여에 따라 iNOS mRNA 발현이 유의적으로($p<0.05$) 감소하였지만, 다른 친염증 사이토카인 발현은 유의적 차이는 없었다. 따라서 육계 생산성 및 친염증 사이토카인 발현에 미치는 영향 등을 고려할 경우, 0.5% 수준의 가시오갈피 급여가 가장 바람직한 것으로 판단된다.

사 사

본 논문은 농촌진흥청 및 경남과기대 동물생명산업센터(RAIC)의 지원으로 연구되었으며 실험분석에 도움을 주신 강선영, 고영현 박사님께 감사의 말씀을 드립니다.

REFERENCES

Abou-Elkhair R, Ahmed HA, Selim S 2014 Effects of black

pepper(*Piper nigrum*), turmeric powder(*Curcuma longa*) and coriander seeds(*Coriandrum sativum*) and their combinations as feed additives on growth performance, carcass traits, some blood parameters and humoral immune response of broiler chickens. Asian-Aust J Anim Sci. 27(6):847-584.

Al-Kassie GAM, Al-Nasrawi MAM, Ajeena SJ 2011 Use of black pepper(*Piper nigrum*) as feed additives in broilers diet. Opin Anim Vet Sci. 1:169-173.

Chen R, Liu Z, Zhao J, Chen R, Meng F, Zhang M, Ge W 2011 Antioxidant and immunobiological activity of water-soluble polysaccharide fractions purified from *Acanthopanax senticosu*. Food Chem. 127:434-440.

Cho SK, Kim HI, Lee MK, Lee JJ, Kwak YC, Lee SC, Lee Y 2009 Effect of dietary supplementation of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch and *Solanum nigrum* L. mixture for alternate the antibiotics on productivity and blood composition in broiler chickens. Kor J Poult Sci. 36:215-222.

Davydov M, Krikorian AD 2000 *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim.(Araliaceae) as an adaptogen: A closer look. J Ethnopharmacol. 72:345-393.

Diallo A, Eklou-Gadegbeku K, Amegbor K, Agbonon A, Aklikokou K, Creppy E, Gbeassor M 2014 *In vivo* and *in vitro* toxicological evaluation of the hydroalcoholic leaf extract of *Ageratum conyzoides* L.(Asteraceae). J Ethnopharmacol. 155:1214-1218.

Gallois M, Rothkötter HJ, Bailey M, Stokes CR, Oswald IP 2009 Natural alternatives to in-feed antibiotics in pig production: Can immunomodulators play a role? Animal. 3: 1644-1661.

Giannini E, Botta F, Fasoli A, Ceppa P, Risso D, Lantieri PB, Celle G, Testa R 1999 Progressive liver functional impairment is associated with an increase in AST/ALT ratio. Dig Dis Sci. 44:1249-1253.

Guzik TJ, Korbust R, Adamek-Guzik T 2003 Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation. J Physiol Pharmacol. 54:469-487.

Han J, Bian L, Liu X, Zhang F, Zhang Y, Yu N 2014 Effects of *Acanthopanax senticosus* polysaccharide supplementation on growth performance, immunity, blood parameters and expression of pro-inflammatory cytokines genes in challenged weaned piglets. Asian-Aust J Anim Sci. 27:1035-1043.

Huyghebaert G, Ducatelle R, Van Immerseel F 2011 An up-

- date on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *Vet J.* 187:182-188.
- Jang IS, Kang SY, Ko YH 2013 Influence of plum(*Prunus mume* Siebold and Zucc.) products on growth performance, intestinal function and immunity in broiler chicks. *J Poult Sci.* 50:28-36.
- Jin LH, Han SS, Choi YS 2002 Antioxidant effects of the extracts of *Acanthopanax senticosus*. *Kor J Pharmacogn.* 33 (4):359-363.
- Kang HK, Beloor J, Sohn SH, Jang IS, Moon YS 2009 Effect of dietary supplementation of *Acanthopanax senticosus* and Eucommiaceae on the expression of lipogenic, myogenic and antioxidant enzyme genes in broiler chickens. *Kor J Poult Sci.* 36:39-45.
- Ko YH, Lee SS, Jang IS 2010 Effects of dietary supplementation of ginkgo leaf and pumpkin on growth performance, intestinal microflora, blood biochemical profile and antioxidant status in broiler chickens. *Kor J Poult Sci.* 37: 23-33.
- Ko YH, Moon YS, Sohn SH, Jung CY, Jang IS 2012 Effect of dietary supplementation of plum or *omija* on growth performance, blood biochemical profiles and antioxidant defense system in broiler chickens *Kor J Poult Sci.* 39:121-131.
- Koo BK, Chung JM, Lee HS 1998 Biochemical evaluation of nutritional status of protein and lipid in patients with alcoholic liver disease. *Kor J Food Sci Nutr.* 27:1236-1243.
- Korver DR 2012 Implications of changing immune function through nutrition in poultry. *Anim Feed Sci & Tech.* 173: 54-64.
- Lee S, Son D, Ryu J, Lee YS, Jung SH, Kang J, Lee SY, Kim HS, Shin KH 2004 Anti-oxidant activities of *Acanthopanax senticosus* stems and their lignan components. *Arch Pharm Res.* 27:106-110.
- Li WG, Zhang XY, Wu YJ, Tian X 2001 Anti-inflammatory effect and mechanism of proanthocyanidins from grape seeds. *Acta Pharmacol Sin.* 22:1117-1120.
- Lin QY, Jin LJ, Cao ZH, Lu YN, Xue HY, Xu YP 2008 *Athopanax senticosus* suppresses reactive oxygen species production by mouse peritoneal macrophages *in vitro* and *in vivo*. *Phytother Res.* 22:740-745.
- Lin QY, Jin LJ, Ma YS, Shi M, Xu YP 2007 *Acanthopanax senticosus* inhibits nitric oxide production in murine macrophages *in vitro* and *in vivo*. *Phytother Res.* 21:879-883.
- Livak KJ, Schmittgen TD 2001 Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods.* 25:402-408.
- Macdonald J, Galley HF, Webster NR. 2003 Oxidative stress and gene expression in sepsis. *Br J Anaesth* 90:221-232.
- Novoselova EG, Lunin SM, Novoselova TV, Khrenov MO, Glushkova OV, Avkhacheva NV, Safronova VG, Fesenko EE. 2009 Naturally occurring antioxidant nutrients reduce inflammatory response in mice. *Eur J Pharmacol.* 615:234-240.
- Schmolz MW, Sacher F, Aicher B 2001 The synthesis of Rantes, G-CSF, IL-4, IL-5, IL-6, IL-12 and IL-13 in human whole-blood cultures is modulated by an extract from *Eleutherococcus senticosus* L. roots. *Phytother Res.* 15:268-70.
- Wang X, Hai CX, Liang X, Yu SX, Zhang W, Li YL 2010 The protective effects of *Acanthopanax senticosus* Harms aqueous extracts against oxidative stress: Role of Nrf2 and antioxidant enzymes. *J Ethnopharmacol.* 127:424-432.
- Wenk C 2000 Recent advances in animal feed additives such as metabolic modifiers, antimicrobial agents, probiotics, enzymes and highly available minerals. Review. *Asian-Aust J Anim Sci.* 13:86-95.
- Yoon TJ, Yoo YC, Lee SW, Shin KS, Choi WH, Hwang SH, Ha ES, Jo SK, Kim SH, Park WM 2004 Anti-metastatic activity of *Acanthopanax senticosus* extract and its possible immunological mechanism of action. *J Ethnopharmacol.* 93:247-253.
- Zuidhof MJ, Schneider BL, Carney VL, Korver DR, Robinson FE 2014 Growth, efficiency, and yield of commercial broilers from 1957, 1978, and 2005. *Poult Sci.* 93:2970-2982.

Received Aug. 10, 2015, Revised Aug. 18, 2015, Accepted Aug. 27, 2015