



Original Article / 원저

익수영진고가미방의 지황박, 복령피 배합과 발효에 따른 제제가 면역활성에 미치는 영향

이유미¹, 김왕인¹, 최동희¹, 김미래¹, 문양선^{2,3}, 김지은³, 윤대환¹, 손홍석¹, 나창수^{1*}

¹동신대학교 한의과대학, ²동신대학교 대학원 대체요법과, ³(유)나우리

The effect of prescriptions prepared by adding medicinal herbs(*Rehmannia glutinosa Residue, Poria cocos Bark*) and fermenting herbal materials based on formulas Iksuyoungjingo on immunological activity

Yu-Mi Lee¹, Wang-In Kim, Dong-Hee Choi¹, Mi-Rae Kim¹, Yang-Seon Moon^{2,3}, Ji-Eun Kim³, Dae-Hwan Youn¹, Hong-Seok Son¹, Chang-Su Na^{1*}

¹School of Korean Medicine, Dongshin University

²Department of Alternative Therapy, Graduate School of Dongshin University

³Nawoori (Ltd)

ABSTRACT

Objectives : This study was carried out to enhance the activity of Iksuyoungjingo, which has the tonify Qi, nourish Yin effect of oriental medicine, and to study the effect of the prescriptions on the immunological activities.

Methods : Immunosuppression was induced by methotrexate (MTX) 2 mg / kg, the experimental group was divided into IYGgami- I, IYGgami- I-F, IYGgami-II and IYGgami-II-F groups. Each prescription was administered with drinking water for 20 days, and body weight was measured every 5 days during this period. Leukocyte, TNF- α , IL-2, IL-6, IgE, spleen weight and body weight were measured

Results : In the changes of TNF- α , IL-2 and IL-6 as pro-inflammatory elements, all of the experimental groups showed a significant increase compared to the control group. In the IgE changes, the IYGgami- I-F, IYGgami-II and IYGgami-II-F groups showed a significant decrease compared to the control group. In the changes of spleen

weight, the IYGgami-II-F group showed a significant increase compared to the control group. In the changes of WBC and lymphocytes, the IYGgami-I-F group showed a significant increase compared to the control group.

Conclusions : From the above results, it can be observed that the efficacy against immunity is exerted in all of the preparations, and it was confirmed that the efficacy was maintained constant even when utilizing the *Rehmannia glutinosa* Residue and *Poria cocos* Bark, and that a more beneficial effect can be exerted in the effectiveness when the fermentation is carried out.

Key words : immunological activities, Iksuyoungjingo, pro-inflammatory elements, Immunosuppression, *Rehmannia glutinosa* Residue, *Poria cocos* Bark

I. 서론

한의학적 면역의 정의는 정상 생명의 생리활동이자 동시에 이를 통해 이루어지는 질병의 예방과, 사기에 대항하는 抗病力과 내부 에너지의 강화를 통한 회복력인 정기를 통해 이루어지는 생명보호유지 현상이다¹⁾.

면역력은 전반적인 질환에 있어서 자신의 숙주를 지키는 가장 기본적인면서 체계적인 방어 시스템으로 숙주에게 이상이 생겼을 경우 가장 빠르게 반응하는 생리적 화학적 반응이다. 따라서 면역체계는 숙주를 방어하는 기본적인 주요 시스템이라 할 수 있다²⁾.

익수영진고는 면역력이 약화된 상태의 虛證을 보익할 수 있는 대표적인 고형제 제제로서 경옥고에 지골피, 맥문동, 천문동이 배합된 제제이며, 익기양음의 효과가 강화된 처방이다. 경옥고는 『洪氏集驗方』에서 최초로 기록된 처방으로 인삼, 백복령, 생지황, 봉밀 4가지 약물로 구성된 처방이며 「동의보감」 신형편에 “填精補髓, 調眞養性, 返老還童, 補百損, 除百病, 萬神俱足, 五藏盈溢”의 효과가 있다고 하였다^{3,4)}.

虛證을 보익할 수 있는 약재들로 근래 버섯류에 관심이 높아지고 있으며, 실제 이들 재료들을 배합한 제제들의 연구가 보고되고 있는데, 나 등⁵⁾은 익수영진고의 기능을 강화하기 위하여 꽃송이버섯을 배합하여 항산화 기능과 면역조절기능이 강화되었음을 보고한 바 있다.

꽃송이버섯(*Sparassis crispa*)은 면역증강 및 항암 효과가 뛰어나다고 알려져 있는 베타글루칸의 함량이 건조중량의 40% 이상인 것으로 보고되고 있어 꽃송이버섯을 첨가한 식의약 원료로 활용이 증가되고 있으며 한의약

재료와 배합함으로써 그 기능성을 향상시키는 방법이 제시되고 있다⁶⁾.

노루궁뎅이버섯(*Hericium erinaceum*)은 꽃송이버섯과 같이 베타글루칸이 풍부하게 함유되어 있어 면역력을 유지하고⁷⁾, 항염증 및 항산화 작용이 우수하며⁸⁾, 또한 대뇌 세포의 활성화를 촉진시킬 수 있는 성분이 함유되어 있어서 여러 다양한 연구에 활용되고 있다⁹⁻¹¹⁾.

초석잠(*Stachys sieboldii* Miq)은 식물의 동충하초라 불릴 정도로 약효가 우수하다고 알려져 있으며¹²⁾, 장에서 발휘되는 면역력을 향상시키고 뇌기능을 활성화시킬 수 있음이 보고되고 있다^{13,14)}.

경옥고 및 익수영진고를 제조하는 방법으로 전통 중탕법을 응용한 방법을 사용할 수 있음을 제시한 바 있는데, 이때 생지황즙은 활용하되 즙을 짜낸 후 나머지 잔사인 지황박은 제거하고, 복령원물에서 백복령을 취하되 복령외피는 제거하고 활용하지 않는다고 하였다³⁻⁵⁾. 생지황에서 생지황즙 대비 지황박이 약 40%를 차지하고 있고, 복령원물에서 백복령 대비 복령외피가 약 15%를 차지하고 있는데, 이를 함께 사용하였을 시의 효과에 관한 연구는 아직까지 없었다.

이에 본 연구에서는 익수영진고의 유효성을 강화하기 위하여 익수영진고에 꽃송이버섯, 노루궁뎅이버섯, 초석잠을 가미한 제제와 추가로 지황박과 복령외피를 가미한 제제, 그리고 이들 제제 각각에 대하여 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* 5-1 균주로 발효한 제제를 시료로 하여 이들 시료 투여가 Methotrexate 유발 면역저하에 미치는 영향을 혈액학적변화, IL-2, IL-6, Ig E, TNF- α 및 비장무게 변화 등으로 관찰한 바,

* Corresponding author : Chang-Su Na, School of Korean Medicine, Dongshin University. 185, Geonjae-ro, Naju-si, Jeollanam-do, 58245, Republic of Korea.

Tel: +82-61-330-3522, Fax: +82-61-330-3519, E-mail: csna@dshu.ac.kr

• Received : February 2, 2018 / Revised : February 7, 2018 / Accepted : February 8, 2018

다음과 같은 지견을 얻었다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험 재료

(1) 동물

체중이 약 170~180 g의 Sprague Dawley계의 백서를 항온항습 환경의 사육장(실내온도 24~26 °C, 습도 40~60%)내에서 고형사료(Pellet, GMO, 한국)와 물을 충분히 공급하면서 1주일 이상 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였으며, 실험기간 동안에도 물과 고형사료를 자유롭게 섭취하도록 하였다.

(2) 배합 재료

꽃송이버섯(*Sparassis crispa*)은 (영)백아산꽃송이버섯(Hwasun, Korea)에서, 노루궁뎅이버섯(*Hericium erinaceus*)은 (주)유림바이오(Pyeongteck, Korea) 구입하여 사용하였다. 홍삼(*Red Ginseng radix*), 백복령(*Poria cocos*), 천문동(*Asparagi radix*), 맥문동(*Liriopsis tuber*), 구기자(*Lycii fructus*), 초석잠(*Stachys sieboldii* Miq), 봉밀(*Honey*)은 한약재유통센터(Hwasun, Korea)와 옴니허브(Daegu, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 생지황(*Rehmanniae radix*)은 생지황영농조합(Geumsan, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 재료는 모두 국내산물을 사용하였다.

(3) 시료별 재료 함량 및 발효

① 익수영진고가미 I (IKSUYOUNGGOGami-I, IYGgami-I)

홍삼 900 g, 봉밀 6,000 g, 천문동 150 g, 맥문동 150 g, 구기자 300 g, 꽃송이버섯 200 g, 노루궁뎅이버섯 700 g, 초석잠 300 g을 사용하였다. 복령원물의 복령외피를 제거한 후 백복령 1,800 g을 사용하였다. 생지황 9,600 g을 착즙하여 생지황즙 5,760 g(착즙율 60%)을 사용하였다.

② 익수영진고가미 II (IKSUYOUNGGOGami-II, IYGgami-II)

홍삼 900 g, 봉밀 6,000 g, 천문동 150 g, 맥문동 150 g, 구기자 300 g, 꽃송이버섯 200 g, 노루궁뎅이버섯 700 g, 초석잠 300 g을 사용하였다. 복령원물 1,800 g을 복령외피와 백복령으로 구분하였고, 백복령 1,530 g(복령원물의 85%)과 함께, 복령외피 270 g(복령원물의 15%)을 함께 사용하였다. 생지황 9,600 g을 착즙하여 생지황즙과 지황박으로 구분하였고, 생지황즙 5,760 g(착즙율 60%)과 함께, 지황박 3,840 g을 함께 사용하였다.

③ 익수영진고가미 I 발효(IKSUYOUNGGOGami-I -Fermented, IYGgami-I -F) 및 익수영진고가미 II 발효(IKSUYOUNGGOGami-II -Fermented, IYGgami-II -F)

익수영진고가미 I 과 익수영진고가미 II의 발효는 내산성, 내담즙산성, 항균활성 등을 통하여 선별된 균주를 분자생물학적 방법인 16S rRNA 염기서열을 통하여 동정하였고, 5-1을 16S rRNA partial sequencing에 의해 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* 과 가장 유사성이 높은 것으로 분석하여 사용균주를 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* 5-1로 정하였으며, 이를 전배양(48h, 37°C)하여 각 sample에 균 2~3% 접종하였고, 37°C, 110h로 발효과정을 진행하였다.

(4) 증탕법에 의한 시료 제조

각 시료의 제조는 증탕법(double boiling method)를 적용하였다. 각 고형재료는 미세분말화 하였고, 이를 생지황즙, 꿀을 함께 넣어 균일하게 혼합 반죽하였다. 이들 재료를 용기에 넣고, 또한 용기는 물이 채워진 증탕기에 넣었다. 3일 동안 자동 온도조절 시스템으로 100±2°C로 유지하면서 1차 증탕을 시행하였고, 이때 증탕기 내 물은 용기가 80% 이상 잠길 수 있게 자동으로 유지되게 하였다. 1차 증탕이 끝난 후 1일 동안 실온에 방치하면서 1차 숙성 과정을 진행하였다. 다시 1일 동안 1차 증탕과 같은 조건으로 2차 증탕을 시행하였고, 이후 1일 동안 1차 숙성과 같은 조건으로 2차 숙성 과정을 진행하였다. 이러한 일련의 과정을 거쳐서 고형태의 시료를 제조하였다.

2. 실험 방법

(1) 면역저하 유발

면역저하 유발은 Methotrexate(Sigma, USA)를 2 mg/Kg의 농도로 정하였으며, 전체 실험기간 20일 중 8일째부터 11일째 4일간 1회/1일 총 4회 구강 투여를 시행하였다.

(2) 군 분리

군 분리는 아무처치를 하지 않은 정상군(Normal), Methotrexate(MTX) 면역저하 유발 후 시술을 하지 않은 대조군(Control), MTX 면역저하 유발 후 익수영진고가미 I 군(IYGgami-I 군, 가미 I 군), MTX 면역저하 유

발 후 익수영진고가미 I 발효 시료 투여군(IYGgami-I-F군, 가미 I 발효군), MTX 면역저하 유발 후 익수영진고가미 II 군(IYGgami-II군, 가미 II 군), MTX 면역저하 유발 후 익수영진고가미 II 발효군(IYGgami-II-F군, 가미 II 발효군)으로 각각 분류하였다.

(3) 시료 투여

각 시료는 음용수에 희석하여 매일 200 mg/Kg의 양으로 전체 실험기간(20일)동안 음용수와 함께 투여하였다.

(4) 체중 및 비장무게 측정

체중은 전자 저울(Cass, China)을 이용하여 을 이용하여 실험 시작일, 5일째, 10일째, 15일째, 20일째 측정하였으며, 비장무게는 실험 종료 후 비장을 분리해 무게를 측정하였다.

(5) 혈액 및 혈청학적 검사

체혈에 의하여 얻어진 혈액 중 약 100 μ l를 EDTA-bottle에 넣은 후 곧바로 Multi species Hematology Analyser(950, Hemavet, USA)에 주입하여 Leukocytes를 측정하였다. 나머지 혈액은 VS 6000CFI(Vision, Korea)에서 3,000 rpm으로 20분간 시행하여 혈청을 분리하였다.

(6) ELISA 측정

① Interleukin-2 (IL-2)

IL-2 측정은 Rat IL-2(R&D Systems, USA)를 사용하여 측정하였다. Microplate 의 각 Well에 Assy Diluent RD1-21 50 μ l을 넣고 Rat IL-2 standard, control, serum 50 μ l를 첨가하고 plate cover로 tapping한 후에 1분간 mixing하고 실온에 2시간 방치하였다. Washing solution 400 μ l로 5회 washing 후 Rat IL-2 conjugate 100 μ l를 첨가하고 plate cover를 덮고 실온에 2시간 방치하였다. Washing solution 400 μ l로 5회 washing 후 Substrate solution 100 μ l를 첨가하고 plate cover를 덮고 실온(dark상태) 30분간 방치하였다. Stop solution 100 μ l를 plate에 넣고 발색반응을 중지시킨 후 microplate reader(EZ Read 400, Biochrom, US)로 450 nm에서 OD(Optical density)를 측정하였다.

② Interleukin-6 (IL-6)

IL-6 측정은 Rat IL-6(R&D Systems, USA)를 사용하여 측정하였다. Microplate 의 각 Well에 Assy Diluent

RD1-21 50 μ l을 넣고 Rat IL-10 standard, control, serum 50 μ l를 첨가하고 plate cover로 tapping한 후에 1분간 mixing하고 실온에 2시간 방치하였다. Washing solution 400 μ l로 5회 washing 후 Rat IL-10 conjugate 100 μ l를 첨가하고 plate cover를 덮고 실온에 2시간 방치하였다. Washing solution 400 μ l로 5회 washing 후 Substrate solution 100 μ l를 첨가하고 plate cover를 덮고 실온(dark상태) 30분간 방치하였다. Stop solution 100 μ l를 plate에 넣고 발색반응을 중지시킨 후 microplate reader(EZ Read 400, Biochrom, US)로 450 nm에서 OD(Optical density)를 측정하였다.

③ Immunoglobulin E (Ig E)

Ig E 측정은 Rat Ig E Elisa Kit(Abcam, UK)를 사용하여 측정하였다. Microplate 의 각 Well에 Ig E standard, control, serum 100 μ l를 넣은 후 plate cover로 tapping한 후에 1분간 mixing하고 실온에 1시간 방치하였다. 1X Wash Buffer로 3회 washing 후 1X Enzyme-Antibody conjugate 100 μ l를 첨가하고 plate cover를 덮고 실온(dark상태)에 1시간 방치하였다. 1X Wash Buffer로 3회 washing 후 TMB Substrate solution 100 μ l를 첨가하고 plate cover를 덮고 실온(dark상태)에 10분간 방치하였다. Stop solution 100 μ l를 plate에 넣고 발색반응을 중지시킨 후 microplate reader(EZ Read 400, Biochrom, US)로 450 nm에서 OD(Optical density)를 측정하였다.

④ TNF- α

TNF- α 측정은 Rat TNF- α (Invitrogen, USA)를 사용하여 측정하였다. Rat TNF- α 가 coating된 microplate에 Rat TNF- α standard, serum, control 100 μ l를 첨가하고 plate cover로 tapping한 후에 1분간 mixing하고 실온에 2시간 방치하였다. Washing solution 400 μ l로 4회 washing 후 Rat TNF- α Biotin Conjugate 100 μ l를 첨가하고 plate cover를 덮고 실온에 1시간 방치하였다. Washing solution 400 μ l로 4회 washing 후 Streptavidin-HRP Working solution 100 μ l를 첨가하고 plate cover를 덮고 실온에 30분간 방치하였다. Washing solution 400 μ l로 4회 washing 후 Stabilized Chromogen 100 μ l를 첨가하고 plate cover를 덮고 실온(dark상태)에 30분간 방치하였다. Stop solution 100 μ l를 plate에 넣고 발색반응을 중지시킨 후 microplate reader(EZ Read 400, Biochrom, USA)로 450 nm에서 OD(Optical density)를 측정하였다. Standard curve를 만

들어 sample의 TNF- α 양을 assay하였다.

3. 통계처리

모든 측정값은 Excel statistic program(Microsoft, USA)을 이용하여 평균치와 표준오차(mean \pm standard error)로 표시하였고, 각 실험군 간의 통계학적 분석은 Window용 SPSS(SPSS, USA)를 사용하였다. 각 실험군은 대조군에 비하여 $\alpha=0.05$ 수준($P<0.05$)과 $\alpha=0.01$ 수준($P<0.01$)에서 유의성을 검정하였다.

III. 결과

1. TNF- α 에 미치는 영향

익수영진고에 재료별로 가미한 제제와 그리고 이들의 발효에 따른 제제가 TNF- α 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군은 7.8 \pm 0.53 pg/ml, 대조군은 10.6 \pm 0.54 pg/ml로 정상군에 비하여 대조군은 유의한 증가를 나타내었으며, IYGgami-I군은 7.7 \pm 0.50 pg/ml, IYGgami-I-F군은 6.2 \pm 0.33 pg/ml, IYGgami-II군은 8.1 \pm 0.57 pg/ml, IYGgami-II-F군은 6.2 \pm 0.18 pg/ml로 대조군에 비하

여 실험군 모두 유의한 감소를 나타내었다(Table 1, Fig. 1).

Table 1. Changes on the TNF- α contents after IYGgami, IYGgami-I-F, IYGgami-II, and IYGgami-II-F administration in Methotrexate-induced Immunosuppressed rats

Group	TNF- α (pg/ml)
Normal	7.8 \pm 0.53
Control	10.6 \pm 0.54##
ITYGgami-I	7.7 \pm 0.50**
ITYGgami-I-F	6.2 \pm 0.33**
ITYGgami-II	8.1 \pm 0.57*
ITYGgami-II-F	6.2 \pm 0.18**

Values are expressed Mean \pm SE. ## $P<0.01$ compared with normal; * $P<0.05$, ** $P<0.01$ compared with control.

Normal, normal group;

Control, Methotrexate 2 mg/kg and no treatment;

ITYGgami, Methotrexate 2 mg/kg and administration of IYGgami 200 mg/kg;

ITYGgami-I-F, Methotrexate 2 mg/kg and administration of IYGgami-I-F 200 mg/kg;

ITYGgami-II, Methotrexate 2 mg/kg and administration of IYGgami-II 200 mg/kg;

ITYGgami-II-F, Methotrexate 2 mg/kg and administration of IYGgami-II-F 200 mg/kg;

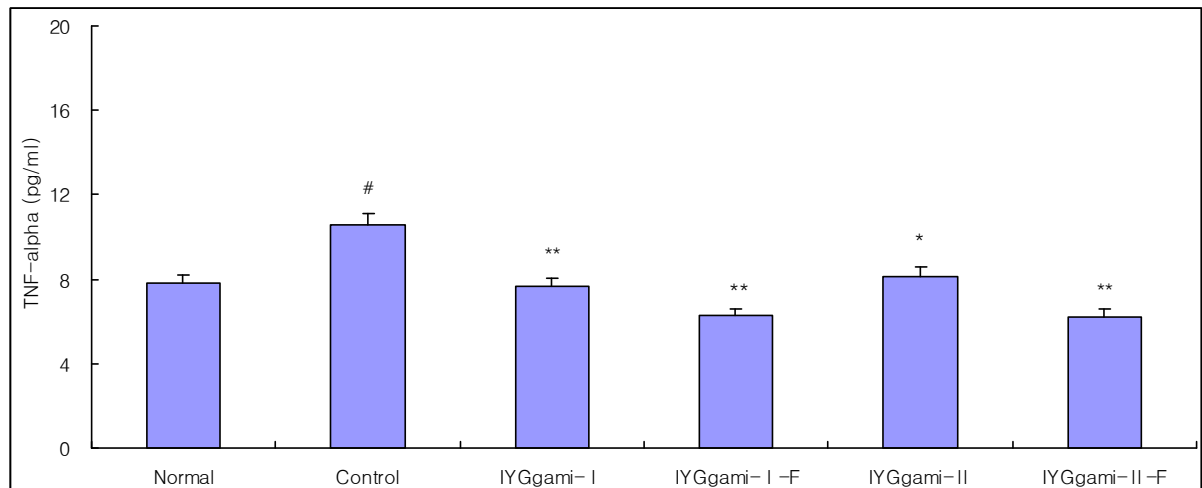


Fig. 1. Effect of IYGgami, IYGgami-I-F, IYGgami-II, and IYGgami-II-F administration on TNF- α in Methotrexate-induced Immunosuppressed rats.

The groups refer to Table 1.

$P<0.01$ compared with normal; * $P<0.05$, ** $P<0.01$ compared with control.

2. Interleukin-2 (IL-2)에 미치는 영향

익수영진고에 재료별로 가미한 제제와 그리고 이들의 발효에 따른 제제가 IL-2 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군은 13.4 \pm 0.36pg/ml, 대조군은 18.5 \pm 1.71 pg/ml

로 정상군에 비하여 대조군은 유의한 증가를 나타내었으며, IYGgami군은 13.8 \pm 0.48 pg/ml, IYGgami-I-F군은 12.8 \pm 0.81pg/ml, IYGgami-II군은 12.5 \pm 0.49pg/ml, IYGgami-II-F군은 12.5 \pm 0.3 pg/ml로 대조군에 비하

여 실험군 모두 유의한 감소를 나타내었다(Table 2, Fig. 2).

Table 2. Changes on the IL-2 contents after IYGgami, IYGgami-I-F, IYGgami-II, and IYGgami-II-F administration in Methotrexate-induced Immunosuppressed rats

Group	Interleukin-2 (IL-2) (pg/ml)
Normal	13.4±0.36
Control	18.5±1.71#
IYGgami-I	13.8±0.48*
IYGgami-I-F	12.8±0.81*
IYGgami-II	12.5±0.49**
IYGgami-II-F	12.5±0.33**

Values are expressed Mean±SE. The groups refer to Table 1. ## P<0.01 compared with normal; * P<0.05, ** P<0.01 compared with control.

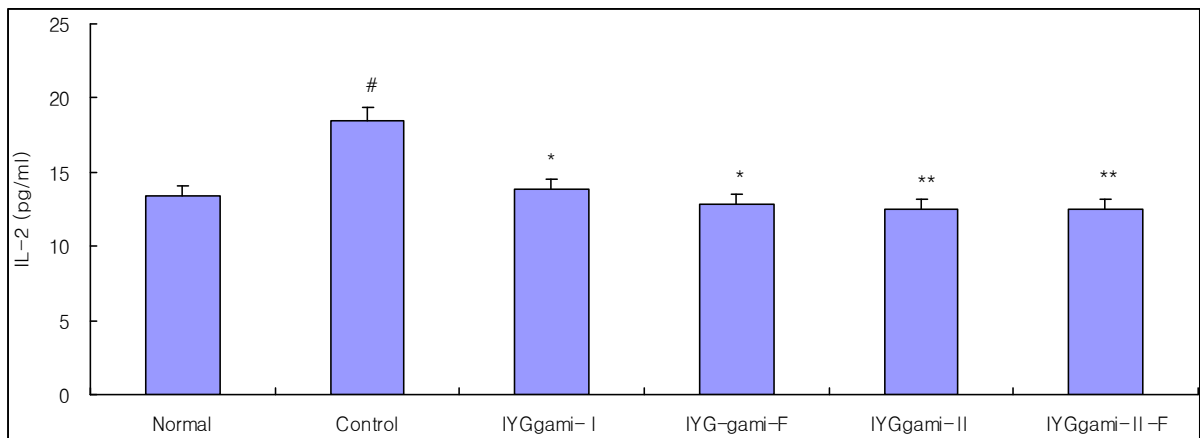


Fig. 2. Effect of IYGgami, IYGgami-I-F, IYGgami-II, and IYGgami-II-F administration on IL-2 in Methotrexate-induced Immunosuppressed rats. The groups refer to Table 1. # P<0.05 compared with normal; * P<0.05, ** P<0.01 compared with control.

3. Interleukin-6 (IL-6)에 미치는 영향

익수영진고에 재료별로 가미한 제제와 그리고 이들의 발효에 따른 제제가 IL-6 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군은 9.5±1.08 pg/ml, 대조군은 15.7±1.29 pg/ml로 정상군에 비하여 대조군은 유의한 증가를 나타내었으며, IYGgami군은 9.0±0.46 pg/ml, IYGgami-I-F군은 7.7±0.95 pg/ml, IYGgami-II군은 8.9±1.27 pg/ml, IYGgami-II-F군은 9.1±0.47 pg/ml로 대조군에 비하여 실험군 모두 유의한 감소를 나타내었다(Table 3, Fig. 3).

Table 3. Changes on the IL-6 contents after IYGgami, IYGgami-I-F, IYGgami-II, and IYGgami-II-F administration in Methotrexate-induced Immunosuppressed rats

Group	Interleukin-2 (IL-10) (pg/ml)
Normal	9.5±1.08
Control	15.7±1.29#
IYGgami-I	9.0±0.46*
IYGgami-I-F	7.7±0.95**
IYGgami-II	8.9±1.27*
IYGgami-II-F	9.1±0.47*

Values are expressed Mean±SE. The groups refer to Table 1. ## P<0.01 compared with normal; * P<0.05 compared with control.

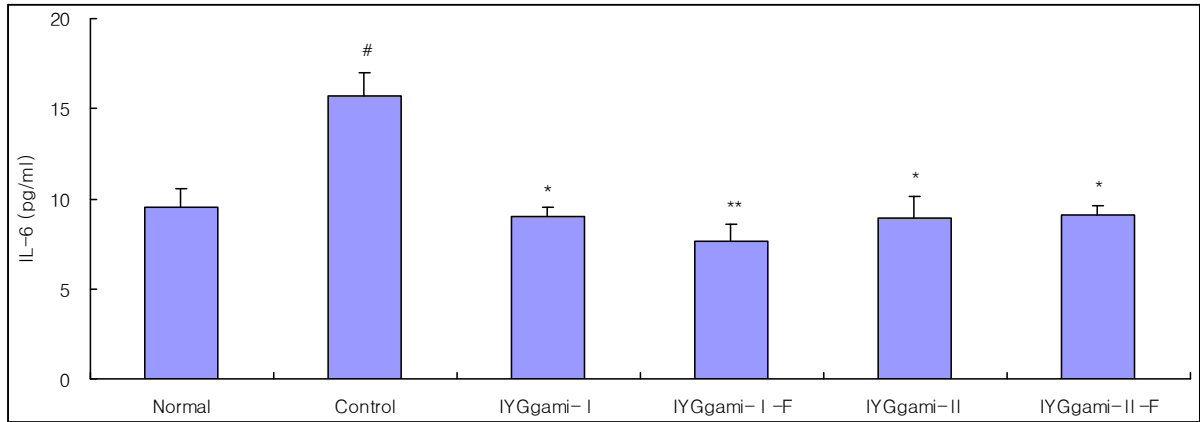


Fig. 3. Effect of IYGgami, IYGgami-I-F, IYGgami-II, and IYGgami-II-F administration on IL-6 in Methotrexate-induced Immunosuppressed rats.

The groups refer to Table 1.

P<0.01 compared with normal; * P<0.05 compared with control.

4. Immunoglobulin E (Ig E)에 미치는 영향

익수영진고에 재료별로 가미한 제제와 그리고 이들의 발효에 따른 제제가 Ig E 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군은 0.16 ± 0.05 pg/ml, 대조군은 0.75 ± 0.18 pg/ml로 정상군에 비하여 대조군은 유의한 증가를 나타내었으며, IYGgami군은 0.27 ± 0.14 pg/ml, IYGgami-I-F군은 0.21 ± 0.06 pg/ml, IYGgami-II군은 0.19 ± 0.07 pg/ml, IYGgami-II-F군은 0.13 ± 0.02 pg/ml로 대조군에 비하여 IYGgami-I-F군, IYGgami-II군, IYGgami-II-F군은 유의한 감소를 나타내었다 (Table 4, Fig. 4).

Table 4. Changes on the Ig E contents after IYGgami, IYGgami-I-F, IYGgami-II, and IYGgami-II-F administration in Methotrexate-induced Immunosuppressed rats

Group	IgE (ng/ml)
Normal	0.16 ± 0.05
IYGgami-I	0.75 ± 0.18 ##
IYGgami-I-F	0.27 ± 0.14
IYGgami-II	0.21 ± 0.06 *
IYGgami-II-F	0.19 ± 0.07 *
IYGgami-II-F	0.13 ± 0.02 **

Values are expressed Mean \pm SE. The groups refer to Table 1. # P<0.05 compared with normal; ** P<0.01, * P<0.05 compared with control.

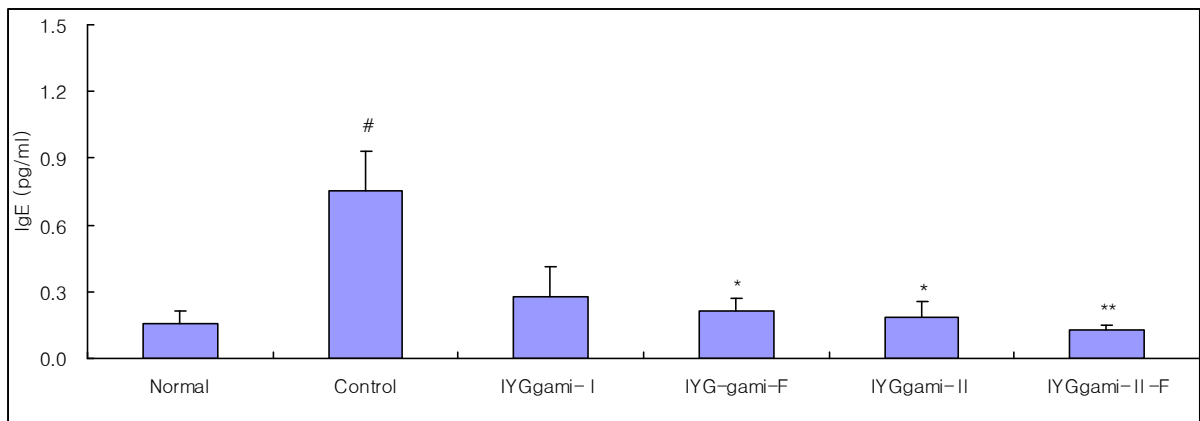


Fig. 4. Effect of IYGgami, IYGgami-I-F, IYGgami-II, and IYGgami-II-F administration on Ig E in Methotrexate-induced Immunosuppressed rats.

The groups refer to Table 1.

P<0.05 compared with normal; ** P<0.01, * P<0.05 compared with control.

5. 비장무게에 미치는 영향

익수영진고에 재료별로 가미한 제제와 그리고 이들의 발효에 따른 제제가 비장무게 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군은 0.83 ± 0.03 g, 대조군은 0.71 ± 0.03 g로 정상군에 비하여 대조군은 유의한 감소를 나타내었으며, IYGgami군은 0.78 ± 0.06 g, IYGgami-I-F군은 0.78 ± 0.05 g, IYGgami-II군은 0.78 ± 0.03 g, IYGgami-II-F군은 0.81 ± 0.02 g으로 대조군에 비하여 IYGgami-II-F군은 유의한 증가를 나타내었다(Table 5, Fig. 5).

Table 5. Changes on the Weight of Spleen after IYGgami, IYGgami-I-F, IYGgami-II, and IYGgami-II-F administration in Methotrexate-induced Immunosuppressed rats

Group	Weight of Spleen (g)
Normal	0.83 ± 0.03
Control	$0.71 \pm 0.03\#$
ITYGgami-I	0.78 ± 0.06
ITYGgami-I-F	0.78 ± 0.05
ITYGgami-II	0.78 ± 0.03
ITYGgami-II-F	$0.81 \pm 0.02^*$

Values are expressed Mean \pm SE. The groups refer to Table 1. # P<0.05 compared with normal; * P<0.05 compared with control.

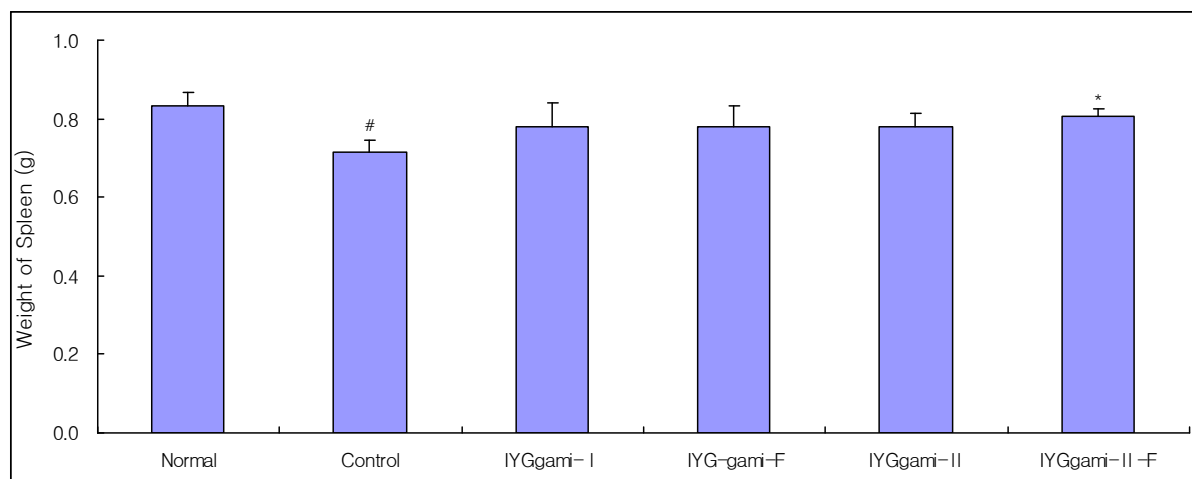


Fig. 5. Effect of IYGgami, IYGgami-I-F, IYGgami-II, and IYGgami-II-F administration on weight of spleen in Methotrexate-induced Immunosuppressed rats. The groups refer to Table 1. # P<0.05 compared with normal; * P<0.05 compared with control.

6. 혈액 Leukocytes 함량 변화에 미치는 영향

익수영진고에 재료별로 가미한 제제와 그리고 이들의 발효에 따른 제제가 혈액 Leukocytes 변화에 미치는 영

향을 관찰한 결과, WBC와 Lymphocytes의 경우 대조군에 비하여 IYGgami-I-F군은 유의한 증가를 나타내었다(Table 6, Fig. 6).

Table 6. Changes on the blood WBC, Neutrophils, Lymphocytes and Monocytes contents after IYGgami-I, IYGgami-I-F, IYGgami-II, and IYGgami-II-F administration in Methotrexate-induced Immunosuppressed rats

Group	WBC(K/uL)	Neutrophils(K/uL)	Lymphocytes(K/uL)	Monocytes(K/uL)
Normal	5.4 ± 0.75	1.06 ± 0.20	4.1 ± 0.54	0.17 ± 0.01
Control	$3.1 \pm 0.42\#$	$0.51 \pm 0.10\#$	$2.4 \pm 0.30\#$	0.16 ± 0.03
ITYGgami-I	3.1 ± 0.26	0.57 ± 0.15	2.6 ± 0.23	0.14 ± 0.03
ITYGgami-I-F	$4.6 \pm 0.43^*$	0.61 ± 0.08	$3.7 \pm 0.32^*$	0.23 ± 0.03
ITYGgami-II	4.2 ± 0.60	0.71 ± 0.12	3.3 ± 0.47	0.19 ± 0.04
ITYGgami-II-F	4.2 ± 0.40	0.69 ± 0.03	3.3 ± 0.37	0.19 ± 0.02

Values are expressed Mean \pm SE. The groups refer to Table 1. # P<0.05 compared with normal; * P<0.05 compared with control.

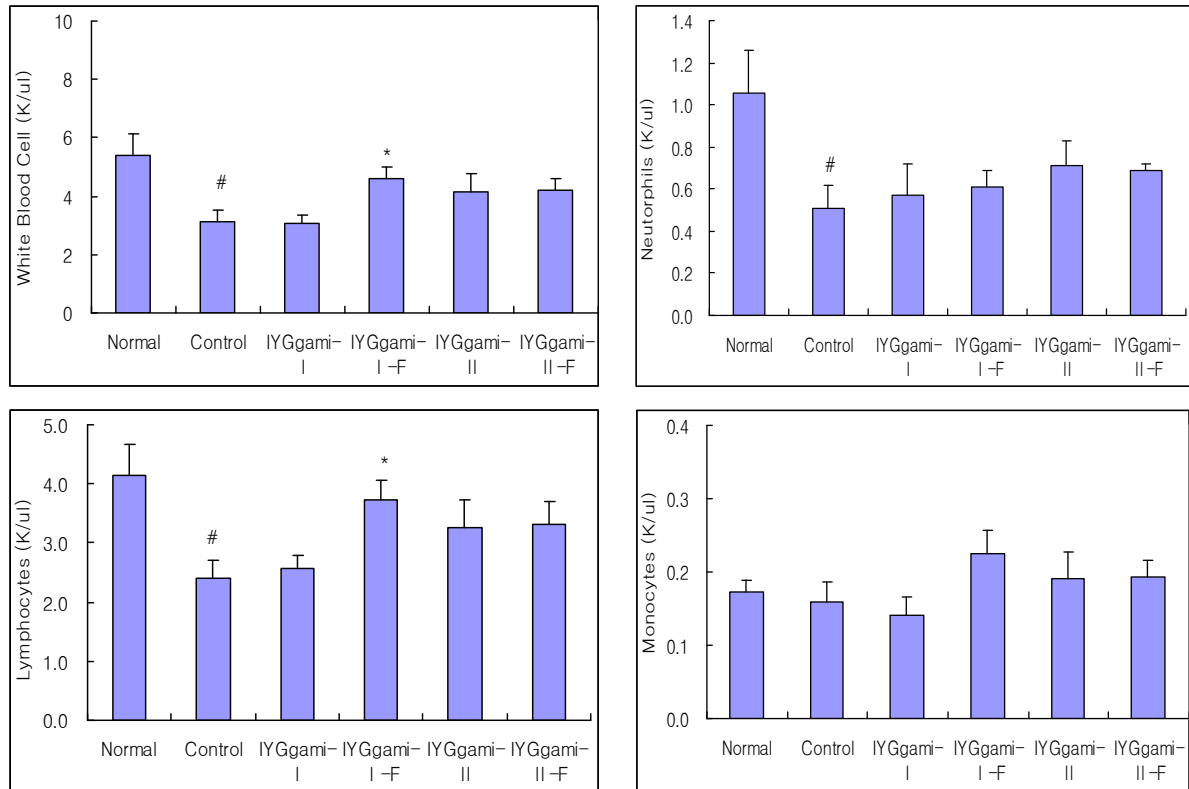


Fig. 6. Effect of IYGgami-I, IYGgami-I-F, M-IYGgami-I, and IYGgami-II-F administration on the blood WBC, Neutrophils, Lymphocytes, and Monocytes contents in Methotrexate-induced Immunosuppressed rats. The groups refer to Table 1. # P<0.05 compared with normal; * P<0.05 compared with control

7. 중체량 변화에 미치는 영향

익수영진고에 재료별로 가미한 제제와 그리고 이들의 발효에 따른 제제가 중체량 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군에 비하여 대조군은 15일째, 20일째에

유의한 감소를 보였으며, 대조군에 비하여 IYGgami-I-F군은 15일째, 20일째에 유의한 증가를 보였고, IYGgami-II군과 IYGgami-II-F군은 15일째에 유의한 증가를 나타내었다(Table 7, Fig. 7).

Table 7. Changes on the weight gain after IYGgami-I, IYGgami-I-F, IYGgami-II, and IYGgami-II-F administration in Methotrexate-induced Immunosuppressed rats (g)

Group	Administraion Duration (days)				
	0	5	10	15	20
Normal	0.0±0.0	33.4±1.3	70.8±2.2	106.4±5.0	130.6±6.1
Control	0.0±0.0	30.2±1.0	72.0±2.6	89.7±2.4#	113.7±3.1#
YGgami-I	0.0±0.0	31.6±2.8	64.6±5.5	91.0±7.3	112.2±7.6
YGgami-I-F	0.0±0.0	33.0±2.1	74.0±4.3	106.2±4.6*	133.4±4.3**
YGgami-II	0.0±0.0	32.4±1.3	69.2±1.6	102.8±3.9*	125.8±5.1
YGgami-II-F	0.0±0.0	30.6±1.0	66.4±1.8	98.2±1.8*	121.6±2.1

Values are expressed Mean±SE. The groups refer to Table 1. # P<0.05 compared with normal; ** P<0.01, * P<0.05 compared with control.

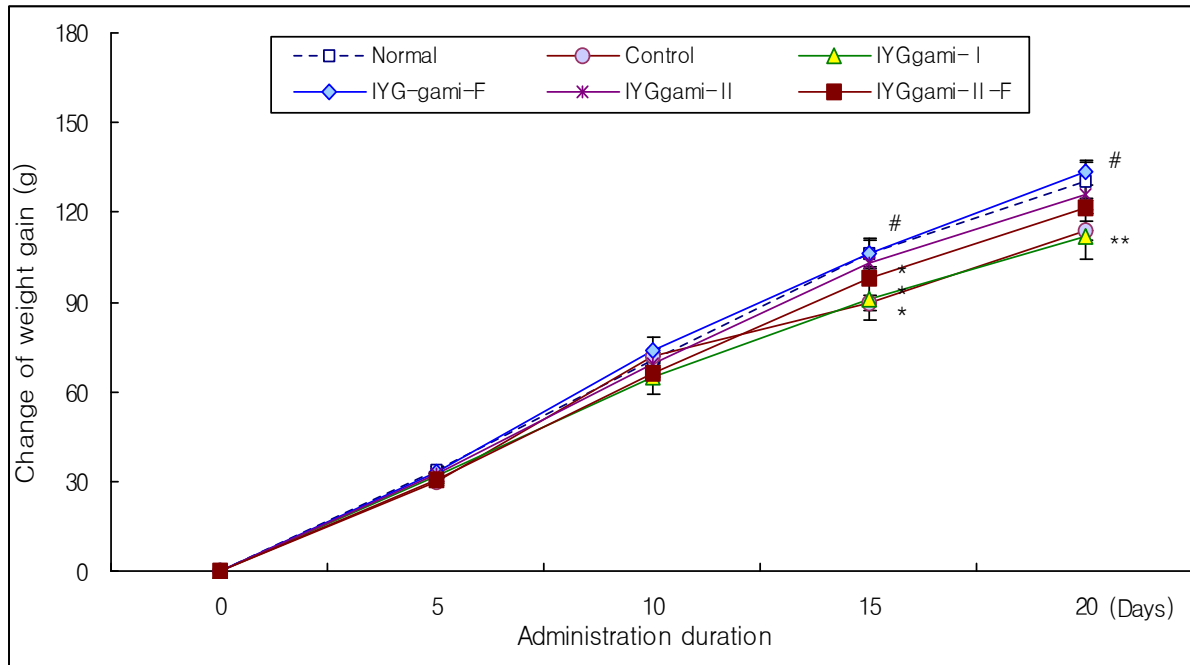


Fig. 7. Effect of IYGgami-I, IYGgami-I-F, IYGgami-II, and IYGgami-II-F administration on the weight gain in Methotrexate-induced Immunosuppressed rats.

The groups refer to Table 1.

P<0.05 compared with normal; ** P<0.01, * P<0.05 compared with control.

IV. 고찰

면역활성은 체내 항원 감염을 인지하고 이에 대한 반응을 통해 감염 물질을 제거하는데 면역계의 기능이 저하되면 항암 기능이 떨어지고 감염성 질환이 발생될 수 있고, 반대로 면역계의 기능이 항진되면 자가면역질환의 원인이 되므로 면역기능은 항상성 유지가 중요하다¹⁵⁾.

경옥고에 대한 면역, 항염, 항암 등의 연구는 알려져 있는 반면 가미(加味)된 처방인 익수영진고에 대한 연구 문헌들은 적은 실정이나 본 연구자들은 이전 연구에서 경옥고와 익수영진고가미방의 유효성을 비교 관찰한 연구를 통하여 면역 관련 사이토카인에 대한 효과가 가미방에서 좀 더 유의성 있게 발휘됨을 보고한 바 있다⁵⁾.

버섯류는 전체적으로 다른 식물성 식품에 비해 단백질 함량이 매우 높다. 그 중에서도 꽃송이버섯과 노루궁뎅이버섯은 면역활성 효과가 우수한 것으로 알려진 베타글루칸이 다량 함유되어 있어서 면역기능 강화해 주기 때문에 강장효과를 발휘하는 약제이다⁷⁾.

초석잠은 꿀풀과 식물 초석잠의 덩이줄기 또는 전초로서 주요 성분인 Stachyose는 장내 미생물을 증식하는 작용이 있어서 면역력을 강화하는데 유용한 재료로서¹⁴⁾, 오장을 이롭게 하고 기가 위로 치밀어 오르는 것을 下氣키며, 정신을 맑게 하는 淸神의 작용이 발휘되는 약제로 알려져 있다¹⁶⁾.

본 연구에서는 보익양음의 강장작용, 즉 면역력을 강화할 수 있는 제제로 알려져 있는 익수영진고의 유효성을 강화하기 위하여 꽃송이버섯, 노루궁뎅이버섯, 초석잠을 가미한 제제(가미 I 군)와 추가로 지황박과 복령외피를 가미한 제제(가미 II 군), 그리고 이들 제제 각각에 대하여 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* 5-1 균주로서 발효과정을 진행한 제제(가미 I 발효군, 가미 II 발효군)를 Methotrexate 유발 면역저하에 미치는 영향을 관찰하고자 하였다.

면역반응력을 결정하는데 있어서 중요한 역할을 하는 것은 사이토카인데 사이토카인에 의해 나누어진 Th세포 중 Th1(TNF- α , IL-2, IL-4)은 세포성 면역반응을 매개하고, Th2(IL-4, IL-6, IL-10)은 체액성 면역반응을 매개하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 염증은 내부에서 조직의 괴사 혹은 발열 등 생리적 변

화를 통하여 생성되며 이는 면역 시스템을 유도하여 초반 염증촉진 인자인 IL-1, 2, 6, TNF- α 등이 반응하고 이 반응이 지속적으로 발생되면 염증이 증폭되고 이를 저지하기 위한 항염증 지표인 IL-4, 10, 13, TGF 등이 반응하여 원상태로 면역 체계를 되돌리려는 작용이 발휘 된다¹⁷⁾. 이들은 전구염증성 (pro-inflammatory) 사이토카인으로 분류되어 면역작용 지표로 사용되고 있다¹⁸⁾.

이들은 대표적인 전구염증성 사이토카인들로 조직손상 시 손상이 커지는 것을 막기 위해 분비되는 초기 반응 물질로서 숙주의 방어를 위해 중요한 매개체 역할을 하지 못하면, 이들이 과량 분비되어 IL-10 등과 같은 항염증성 사이토카인들과 균형을 이루지 못하게 되어 면역기능에 악영향을 미치는 것으로 알려져 있다¹⁹⁾.

종양괴사인자라고도 불리는 TNF- α 는 림프구를 활성화하고 성장을 조절하여 항암작용을 하지만 활성화된 대식세포에서 과도하게 생성될 경우 조직 손상 및 염증반응을 촉진시키는 인자로서 작용한다²⁰⁻²²⁾.

본 연구에서 면역저하에 대하여 시료별 투여가 사이토카인 함량에 미치는 영향을 관찰한 결과, TNF- α , IL-2, IL-6 대조군에 비하여 실험군 모두 유의한 감소를 나타내었다. 전구염증성 사이토카인을 억제하여 방어역할을 발휘하는데 주요하게 작용되는 것으로 사료된다. 본 연구의 4종 시료 이들 지표에 대하여 모두 억제 작용을 발휘되는 것으로 보아 익수영진고에 배합된 시료 및 발효된 시료는 모두 유의한 효능을 나타낸 것으로 보여지며, 단 억제효과의 패턴을 볼 때, TNF- α , IL-2, IL-6에서 공통적으로 발효를 시행했을 때 억제 효과가 좀더 우수한 것으로 사료된다.

Ig E는 화학적 반응을 일으키고 사이토카인을 분비하여 염증의 초기와 후기 반응을 유도함으로써 만성적 염증을 지속시키는 주요한 역할을 하는 지표이다²³⁾.

본 연구에서 IgE 함량은 대조군은 정상군에 비하여 4.7배로 유의하게 높은 수준을 나타내었고, 대조군에 비하여 가미 I 발효군, 가미 II군, 가미 II 발효군이 유의한 감소를 나타내었으며, 가미 I 군은 감소의 경향을 나타내었으나 유의성은 인정되지 않았다. IgE는 알레르기 및 아토피 피부염과 같은 질환 환자의 혈청에서 특히 높은 수치를 보인다²⁴⁻²⁶⁾. 가미 I 발효군, 가미 II 발효군 모두 유의한 감소 수준을 보인 것으로 볼 때 발효가 주요하게 면역을 조절하는데 관여할 수 있다고 사료되며, 또한 가미 II 군에서 유의한 감소를 나타낸 것으로 볼

때, 지황박과 복령외피 역시 면역 조절에 주요하게 영향을 미치는 것으로 사료된다.

비장은 T-cell, B-cell, 대식세포 등 다양한 생체 면역방어 시스템을 구축하는 세포가 밀집되어 있는 장기로 면역기능에 관여하며 특히 체액성 면역반응을 나타낸다. 또한 비장의 크기는 면역반응과 밀접한 관련이 있는 것으로 보고되고 있다²⁷⁾.

본 연구에서 MTX 면역저하에 대하여 시료별 투여가 비장 무게 변화에 미치는 영향에서 면역저하된 대조군 (Control)은 정상군보다 유의한 감소를 보였으며, 대조군에 비하여 익수영진고에 꽃송이버섯, 노루궁뎅이버섯, 초석잠 그리고 지황박과 복령외피를 추가로 배합하고 이를 발효한 가미 II 발효군이 유의한 증가를 나타내었다. 가미 I 군, 가미 I 발효군, 가미 II 군은 대조군에 비하여 증가의 경향을 보였으나 유의성은 인정되지 않았다. 일반적으로 생체내 면역 지표로 인지되는 비장은 부분적으로 림프구의 생성차이를 가져올 수 있으며 감염에 영향을 미치는 기관이다²⁸⁻³⁰⁾. 비장무게가 감소되는 것은 특정질환에서 더욱 많은 변화를 보일 수 있고³¹⁾, 면역조절제로 치료할 시 흉선과 비장의 무게가 증가하는 것으로 알려져 있다³²⁾. 본 연구에서 대조군의 비장 무게가 감소한 것은 MTX에 의해 면역이 저하되면서 림프구 생성량이 감소가 발현되고 이에 따라 비장세포에 영향을 미친 것으로 사료되며, 면역 저하에 대하여 가미 II 발효군의 비장 무게가 유의하게 증가한 것으로 볼 때, 지황박과 복령외피를 배합하고 발효하였을 시에 좀 더 유의한 면역조절 작용을 발휘한 것으로 사료된다.

혈액 내 백혈구(WBC)함량은 정상군에 비하여 MTX에 의해 면역저하를 유발시켰을 경우 대조군은 유의적으로 감소하였으며, 익수영진고에 꽃송이버섯, 노루궁뎅이버섯, 초석잠을 배합하고 이를 발효한 가미 I 발효군이 유의한 증가를 나타내었고, 지황박과 복령외피를 배합한 가미 II 군과 이를 발효한 가미 II 발효군은 유의성은 인정되지 않았으나 증가의 경향을 나타내었고, 이러한 결과는 림프구(lymphocyte)에서 동일한 패턴을 보였다. 이전의 연구³³⁾ 에서도 발효에 의하여 leukocyte 계에 유의한 차이를 나타냄을 제시한 바 있는데, 수용성 비타민 중 하나인 riboflavin은 인체의 면역체계에서 염증을 유발하는 매개체 생산을 억제하는 역할을 하는데^{34,35)}, 특히 식세포의 포식작용을 향상시키고 호중구, 림프구를 자극하여 면역력을 향상시키는 역할을 한

다^{36,37)}. 이러한 결과는 발효과정 중 생합성된 riboflavin의 작용으로 인한 결과로 사료된다.

증체량에 미치는 영향에서 정상군에 비하여 MTX에 의해 면역저하를 유발시켰을 경우 대조군은 15일째, 20일째에 유의한 감소를 나타낸 반면에, 대조군에 비하여 15일동안 약을 투여한 가미 I 발효군, 가미 II군, 가미 II 발효군에서 유의한 증가를 나타내었다. 이의 결과는 본 연구의 제제가 체내의 흡수를 촉진시켜 체중이 증가된 것으로 사료되며, 이의 결과도 발효한 제제가 좀더 효과적으로 나타났다.

위의 결과로 볼 때, 익수영진고에 꽃송이버섯, 노루궁뎅이버섯과 초석잠을 가미한 제제, 지황박과 복령외피를 추가로 배합한 제제, 그리고 각각을 발효한 제제 등 4가지 시료는 면역활성을 증강하는 작용이 일정하게 발휘됨을 관찰할 수 있었고, 지황박과 복령외피를 추가로 배합할 시에도 그 효능이 일정하게 유지됨과 함께 효능 강화시킬 수 있음을 확인할 수 있었으며, 아울러 발효를 시행했을 때 그 면역활성 효과가 증강됨을 확인할 수 있었다.

V. 결론

익수영진고의 유효성을 강화하기 위하여 익수영진고에 꽃송이버섯, 노루궁뎅이버섯, 초석잠을 가미한 제제와 추가로 지황박과 복령외피를 가미한 제제, 그리고 이들 제제 각각에 대하여 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* 5-1 균주로 발효한 제제를 시료로 하여 이들 시료 투여가 Methotrexate 유발 면역저하에 미치는 영향을 TNF- α , IL-2, IL-6, Ig E 및 비장무게 변화 등으로 관찰한 바, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. TNF- α 변화에서, 대조군에 비하여 실험군 모두 유의한 감소를 나타내었다.
2. IL-2 변화에서, 대조군에 비하여 실험군 모두 유의한 감소를 나타내었다.
3. IL-6 변화에서, 대조군에 비하여 실험군 모두 유의한 감소를 나타내었다.
4. IgE 변화에서, 대조군에 비하여 IYGgami-I-F군, IYGgami-II군, IYGgami-II-F군이 유의한 감소를 나타내었다.
5. 비장무게 변화에서, 대조군에 비하여 IYGgami-I-F군이 유의한 증가를 나타내었다.

6. 혈액 Leukocytes 변화에서, 대조군에 비하여 WBC와 Lymphocytes의 경우 IYGgami-I 군이 유의한 증가를 나타내었다
7. 증체량 변화에서, 대조군에 비하여 IYGgami-I-F 군이 15일째, 20일째에 유의한 증가를 보였고, IYGgami-I 군과 IYGgami-II-F군이 15일째에 유의한 증가를 나타내었다.

이상에서 본 연구의 4가지 시료 모두 면역활성에 일정한 효과가 발휘됨을 관찰할 수 있었으며, 이러한 면역활성 효과는 지황박과 복령외피 배합 및 발효가 좀더 유리하게 작용될 수 있음을 제시하는 것으로 사료된다.

Acknowledgement : This work was supported by the Technology development Program(S2439397) funded by the Ministry of SMEs and Startups(MSS, Korea)

References

1. Jeong KS. A Study about Immunity in Korean Medicine. KyungHee University Doctor. 2015.
2. Choi YA, Kwon EH, Lee YK, Shin HC, Kang SB, Park SK. The Effect of Samilshinkihwan on Immunosuppression Induced in Rats by Methotrexate. Journal of Korean Oriental Internal Medicine. 2007 ; 28(1) : 12-24.
3. Her J. Dongeuibogam. Seoul : Namsandang. 1989 : 78.
4. Kim MD. The literature study on the efficacy and manufacturing process of Gyeongoggo. J Oriental Medical Classics. 2011 ; 24(2) : 51-64.
5. Na CS, Shin W, Lee YM, Moon YS, Noh HK, Seo SH, Son HS. Effect of Original Kyungokgo & Iksuyongjinggo plus *Sparassis crispa* on Antioxidant, Immunity Improvement and Sensory Evaluation. The Korea Journal of Herbology. 2016 ; 31(4) : 43-51.
6. Ohno N, Miura NN, Nakajima M, Yadomae T. Antitumor 1,3-beta-glucan from cultured fruit body of *Sparassis crispa*. Biol Pharm Bull. 2000 ; 23 : 866-72.

7. Jeong KJ. Agricultural characteristics and pharmacological functionality of *Heirium erinaceus*. Mushroom. 2005 ; 9(1) : 46-57.
8. Choi YI, Lee JS, Lee UY, Lee TS. Immuno-stimulating and Antitumor Effects on Mouse Sarcoma 180 by Crude Polysaccharides Extracted from Fruiting Body of *Hericium erinaceus*. Journal of Life Science. 2010 ; 20(4) : 623-31.
9. Yang SW, Kim BR, Lee JW, Lee C, Moon BK. Quality Characteristics of Cream Soup with *Hericium erinaceus* Powder. Journal of the East Asian Society of Dietary Life. 2014 ; 24(5) : 631-40.
10. Lee CB. Anti-inflammation Activity of Water Extracts from *Hericium Erinacium* among Medicinal Mushrooms. Culinary Science & Hospitality Research. 2012 ; 18(4) : 233-42.
11. Kim DH, Park SR, Trishina D, Hasnat MDA, Pervin M, Lim BO. Evaluation of the Antioxidant Activity and Anti-Inflammatory Effect of *Hericium erinaceus* Water Extracts. Korean journal of medicinal crop science. 2013 ; 21(2) 112-7.
12. Park BG. Antimicrobial, Antitumor and Antioxidant activity from *Stachys sieboldii*, MIQ. Kyung Seong University Master. 2004.
13. Ryu BH, Park BG, Sonh SK. Antitumor Effects of the Hexane Extract of *Stachys Sieboldii* MIQ. Korean Journal Biotechnology Bioeng. 2002 ; 17(6) : 520-24.
14. Lee SW, Jung TH, Shin YW. A Comparative Study of Memory Improving Effects of *Stachys Rhizome* and *Lycopi Rhizome* on Scopolamine-induced Amnesia in mice. The Korea Journal of Herbology. 2013 ; 28(5) : 69-77.
15. Na HJ, Jung YS. Immune homeostasis by diversity of regulatory T cell. Molecular and Cellular Biology Newsletter. [serial online] 2015 ; 5(2) : [7 screens]. Available from : URL : http : www.ksmcb.or.kr/file/ webzine/2015_05_02.pdf
16. Kim CM, Shin MG, An DG, Lee KS. Chinese Medicine Dictionary. JeongDam. 1999 : 5513-5
17. Oh JS, Ham IH, Kim HM, Choi HY. Enhancement of immune activities of *Cistanche deserticolae* Herba and *Cistanche salsae* Herba. The Korea Journal of Herbology. 2005 ; 20(1) : 63-72.
18. Brubdaker JO, Thompson CM, Morrison LA, Knipe DM Siber, Giber GR, Finberg RW. Th-associated immune responses to beta-galactosidase expressed by replication-defective herpes simplex virus. J Immunol. 1996 ; 157 : 1598-604.
19. Kim MH, Kim JH, Ahn HJ. Responses of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines with clonidine premedication in patients undergoing spinal surgery. Korean J Anesthesiology. 1998 ; 35 : 1080-8.
20. Balkwill FR, Naylor MS, Malik S. Tumor necrosis factor as an anticancer agent. Eur J Cancer Clin Oncol. 1990 ; 26 : 641-4.
21. Lee SC, Liu W, Dickson DW, Brosnan CF, Berman JW. Cytokine production by human fetal microglia and astrocytes. Differential induction by lipopolysaccharide and IL-1 beta. J Immunol. 1998 ; 150 : 2659-67.
22. Cheung CY, Poon LL, Lau AS, Luk W, Lau YL, Shortridge KF, Gordon S, Guan Y, Peiris JS. Induction of proinflammatory cytokines in human macrophages by influenza A (H5N1) viruses: a mechanism for the unusual severity of human disease?. Lancet. 2002 ; 360 : 1831-7.
23. Ahn KM. Role of Mast Cells in Allergic Inflammation and Innate Immunity. Korean Journal of Pediatrics. 2004 ; 47(11) 1137-41.
24. Grewe M, Bruijnzeel-Koomen CA, Schöpf E, Thepen T, Langeveld-Wildschut AG, Ruzicka T, Krutmann J. A role for Th1 and Th2 cells in the immunopathogenesis of atopic dermatitis. Immunol Today. 1998; 19 : 359-361.
25. Uehara M, Kimura C. Descendant family history of atopic dermatitis. Acta Derm Venereol. 1993 ; 73 : 62-3.
26. Horan RF, Schneider LC, Sheffer AL. Allergic skin disorders and mastocytosis. J Am Med Assoc. 1992 ; 268 : 2858-68.
27. Ryu HS, Kim J, Kim HS. Original Articles :

- Enhancing Effect of *Sorghum bicolor* L. Moench (*Sorghum*, su-su) Extracts on Mouse Spleen and Macrophage Cell Activation. *The Korean Journal of Food & Nutrition*. 2006 ; 19(2) : 176-82.
28. Mertin J, Meade CJ, Hunt R, Sheena J. Importance of the spleen for the immuno-inhibitory action of linoleic acid in mice. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 1977 ; 53: 469-73.
29. Bin-Hafeez B, Ahmad I, Haque R, Raisuddin S. Protective effect of *Cassia occidentalis* L. on cyclophosphamide-induced suppression of humoral immunity in mice. *J Ethnopharmacol*. 2001 ; 75 : 13-8.
30. Ryu HS, Kim KO, Kim HS. Effects of plant water extract *Codonopsis lanceolatae* on mouse immune cell activation *ex vivo*. *Korean J Nutr*. 2009 ; 42 : 207-12.
31. Cho CW, Rhee YK, Kim YC, Han CJ, Shin KS, Hong HD. Immunomodulatory effects of polysaccharides derived from persimmon leaves on cyclophosphamide-induced immunosuppressed mice. *Korean J Food Sci Technol*. 2013 ; 45 : 636-41.
32. Chen Y, Tang J, Wang X, Sun F, Liang S. An immunostimulatory polysaccharide (SCP-IIa) from the fruit of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. *Int J Biol Macromol*. 2012 ; 50 : 844-8.
33. Park SE, Seo SH, Moon YS, Lee YM, Na CS, Son HS. Antioxidant and Immunological Activities of *Sparassis crispa* Fermented with *Meyerozyma guilliermondii* FM. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2016 ; 45(10) : 1398-1405
34. Kodama K, Suzuki M, Toyosawa T, Araki S. Inhibitory mechanisms of highly purified vitamin B2 on the productions of proinflammatory cytokine and NO in endotoxin-induced shock in mice. *Life Sci*. 2005 ; 78 : 134-9.
35. Bertollo CM, Oliveira AC, Rocha LT, Costa KA, Nascimento EB Jr, Coelho MM. Characterization of the antinociceptive and anti-inflammatory activities of riboflavin in different experimental models. *Eur J Pharmacol*. 2006 ; 547 : 184-91.
36. Osame S, Araki S, Kimura M. Effects of vitamin B2 on neutrophil functions in cattle. *J Vet Med Sci*. 1995 ; 57 : 493-5.
37. Kimura M, Suzuki M, Araki S. In vitro and in vivo effects of riboflavin sodium phosphate on the phagocytic activity of peritoneal macrophages in mice. *Anim Sci Technol*. 1996 ; 67 : 368-73.