

홍삼과 노루궁뎅이버섯 추출물이 Balb/c mice 비장세포의 활성화에 미치는 영향

한충현 · 이 현* · 강제희 · 유화연

대전대학교 한의과대학 침구의학과교실

Effects of Red Ginseng and Hericium Erinaceus Extracts on the Activity of Balb/c Mouse Spleen Cells

Choong Hyeon Han, Hyun Lee*, Jae Hui Kang, Hwa Yeon Ryu

Department of Acupuncture and Moxibustion Medicine, College of Korean Medicine, Daejeon University

The study aimed to evaluate the effects of mixed extracts of Hericium erinaceus and red ginseng on immune function activation. Splenocytes from Balb/c mice were used to assess the cytotoxicity and immune cell activity of Hericium erinaceus extract, Korean red ginseng extract, and their mixed extract (HRM). The concentrations of IL-2, IL-4, IL-12, and INF-γ were measured in various treatment groups. Hericium erinaceus extract showed cytotoxicity at high concentrations (HEE 400), with increased secretion of IL-2, IL-4, IL-12, and INF-γ in a concentration-dependent manner. Korean red ginseng extract and HRM also showed a concentration-dependent increase in these cytokines. Notably, IL-2, IL-4, and INF-γ were significantly higher in the RGE 400 and HRM 400 groups compared to the ConA group, and IL-12 was significantly higher in the RGE 400 group compared to the Normal and ConA groups. The study suggests that combined extracts of Koran Red ginseng and Hericium Erineceus may be more effective than single extracts in activating immune function, but further studies are needed to determine safety and human applicability.

keywords : Hericium Erinaceus, Korean red ginseng, Immune system, Cytokines, In vitro

서론

면역은 생명체가 외부 이물질로부터 자신을 보호하는 반응으로, 선천면역과 적응면역으로 나뉜다. 선천면역은 감염 이전부터 존재하여 빠르게 반응하는 방어기전이며, 적응면역은 감염원에 반복적으로 노출될 때 방어 능력이 강화되는 면역반응이다¹⁾. 면역체계는 감염성 병원체뿐만 아니라 무해한 환경성 분자, 종양, 자기 분자에 대한 반응을 포함하며, 선천면역과 적응면역으로 나뉜다. 선천면역은 염증과 항바이러스 작용으로 감염에 빠르게 반응하고, 적응면역은 T세포와 B세포가 미생물 항원을 특이적으로 인식해 유도된다. 상피세포, 포식세포, 자연살해세포, 보체 단백질 등이 미생물을 억제하고 염증을 유발해 감염을 방어하며, 항원제시세포는 미생물 항원을 포획해 T세포에 전시한다. Th1 세포는 대식세포를 활성화하고 탐식작용을 자극하며, Th2 세포는 B 세포를 활성화하여 항체 반응을 유도한다. 이러한 사이토카인들은 면역 시스템의 항상성을 유지하는 역할을 한다²⁾.

최근 COVID-19 팬데믹으로 면역의 중요성이 강조되었다. 영양

상태는 면역 기능과 밀접한 관련이 있다³⁾. 영양 불량 아동의 면역 기관과 세포 구성에 변화가 나타났다는 연구도 존재한다⁴⁾. 한약재와 천연물질은 면역기능 향상에 오래전부터 사용됐으며, 최근에는 천연 물질 추출물의 약리 작용에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다⁵⁾.

버섯은 뛰어난 맛과 영양학적인 가치가 알려진 균류로 이전부터 식용 및 약용으로 널리 이용되었다⁶⁾. 그중 노루궁뎅이버섯(Hericium erinaceus)은 β-glucan과 같은 생리활성 물질이 풍부해 영양학적으로 매우 가치가 높은 버섯으로, 면역 조절, 지질 감소, 항산화, 신경 보호와 같은 다양한 건강 이점을 제공하는 것으로 알려져 있다^{7,8)}. 또한, 항균, 항고혈압, 항당뇨, 상처 치유 효과도 보고되었으며, 비타민과 미네랄이 풍부해 영양적으로도 뛰어난 식품이다⁹⁻¹¹⁾. 최근의 연구에서는 노루궁뎅이버섯이 항암 및 종양 억제 효과를 가지고 있는 것으로 밝혀졌다¹²⁻¹⁴⁾. 또한, 심혈관질환의 예방 효과와 치매, 인지기능 저하, 우울증, 불안장애, 갱년기 증상 완화에도 도움이 되는 것으로 나타났다^{8,15)}.

홍삼은 인삼(Phanax ginseng C.A. Meyer)을 증숙, 건조하는 과정을 거쳐 제조하며, 증숙 과정에서 Rg2, Rg3, Rg5, Rh1, Rh2,

* Corresponding author

Hyun Lee, Daejeon University, 4 Notaeasan-ro, Seobuk-gu, Cheonan-si, Chungcheongnam-do 31099, Republic of Korea

·E-mail : lh2000@dju.kr ·Tel : +82-41-521-7578

·Received : 2025/05/08 ·Revised : 2025/07/29 ·Accepted : 2025/08/01

© The Society of Pathology in Korean Medicine, The Physiological Society of Korean Medicine

pISSN 1738-7698 eISSN 2288-2529 http://dx.doi.org/10.15188/kjopp.2025.08.39.4.95

Available online at https://kmpath.jams.or.kr

Rk1 같은 홍삼 특이적 진세노사이드의 함량이 증가하게 된다¹⁶⁾. 이러한 진세노사이드의 작용을 통해 종양의 증식 억제, 항산화 및 면역의 증진, 항염증 및 항노화 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다¹⁷⁾.

이처럼 노루궁뎅이 버섯과 홍삼 각각의 단일물에 대한 다양한 연구가 진행되어 왔으나, 노루궁뎅이버섯과 홍삼의 복합 추출물에 대한 연구는 아직 부족한 실정이다. 따라서, 본 연구에서는 두 물질의 혼합 추출물이 홍삼 단일 추출물과 비교하여 어떠한 효능을 나타내는지 평가하기 위해 Balb/c mice의 비장세포를 사용하여 세포독성 및 면역세포의 활성도를 비교하였다. 이를 통해 혼합 추출물의 면역 기능 활성화 효과를 분석하였다. 또한, 호흡기 염증 반응 및 신경성 염증과 관련된 유전자 발현 변화를 함께 분석하였다. 특히 점액 분비 및 면역세포 이동에 중요한 유전자(mMUC5AC, mTARC), 염증 매개 유전자(mCOX-2, mMIP2), 통증 및 신경성 염증 관련 유전자(mTRPA1, mTRPV1) 등 총 6종의 유전자에 대한 real-time qPCR 분석을 통해, 복합물의 작용 기전을 보다 정밀하게 탐색하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시료 준비

홍삼은 옴니허브(대구, Korea)에서 구입한 인삼을 생약규격집에 따라 선별한 후, 40°C에서 24시간 건조, 95°C에서 3시간 동안 증숙, 그리고 다단계 건조 과정을 거쳐 제조하였다. 제조된 홍삼 100g을 증류수 1L로 추출하여 열탕추출기(대웅, Korea)에서 3시간 동안 추출한 추출액을 흡입 여과, 감압증류기(EYELA, CO. LTD, Japan)를 이용하여 감압 농축한 후, 이를 다시 동결건조기(PF-10/ALPHA 1-2LD, Germany)로 완전건조하여 수율 52.9%의 홍삼 추출물(Red ginseng extract, RGE)을 얻었으며, 이를 -84°C에서 보관하며 실험에 사용하였다.

노루궁뎅이버섯은 충남 세종시에 위치한 노루궁뎅이버섯 농장에서 구입한 버섯을 생약규격집에 따라 관능 검사를 통해 기준을 충족하는 것만을 선별하여 실험에 사용하였다. 노루궁뎅이버섯을 분쇄기로 분말 형태로 만든 후, 증류수 1ℓ와 함께 환류추출기에 넣어 90°C에서 4시간 동안 추출하였다. 이후 감압증류기로 21 brix까지 농축한 후 동결건조기로 완전 건조시켜 사용하였으며, 수율은 35.84%였다. 완성된 추출물(Hericium Erinaceus Extract, HEE)은 -80°C에서 냉동 보관하여 실험에 사용하였다. 이 후 노루궁뎅이버섯 추출물과 홍삼 추출물의 동결건조 파우더를 7:3의 비율로 섞어 100 mg/kg과 200 mg/kg 복합물(Red Ginseng and Hericium Erinaceus Extract Mix, HRM)을 만들었다.

2. 비장세포의 분리 및 배양

수컷 8주령의 Balb/c mice(FOLAS INTERNATIONAL)의 비장을 취하여 적당량의 무균 HBSS 용액이 담긴 용기에 넣은 후, 멸균 핀셋으로 조직을 잘게 절단하여 단일 비장세포 현탁액을 제조하였다. 현탁액은 cell strainer(FALCON, USA)를 통해 여과하고, HBSS로 3회 세척하였으며, 세척 시 원심분리는 1,000 rpm에서 수행하였다. 세척 후 세포는 RPMI 1640 배지에 10% FBS 및 1%

penicillin/streptomycin을 첨가하여 최종 농도 2×10^6 cells/ml로 조절하였다.

3. ELISA법을 이용한 면역세포활성 정량 평가

2×10^6 cells/ml로 조절한 비장세포를 24 well plate에 well 당 1 ml씩 분주한 후, 각 실험군에 Con A(0.5 µg/ml) 및 RGE, HEE, RHM 추출물을 각각 400, 200, 100, 50 µg/ml 농도로 처리하였다. 비장세포를 10% FBS 및 1% penicillin/streptomycin이 포함된 RPMI 1640 배지에 배양한 후, 상기 각 실험군 조건으로 48시간 동안 배양하였다. 상등액을 수거하여 IFN-γ, IL-2, IL-4, IL-10, IL-12의 발현을 ELISA kit(Chondrex, USA, R&D Systems, USA)로 측정하였다. 96 well ELISA plate에 anti-mouse IFN-γ, IL-2, IL-4, IL-10, IL-12 capture 항체를 1 µg/ml 농도로 코팅하고 4°C에서 12시간 방치하였다. 코팅 후, 2% BSA가 포함된 PBS로 비특이적 결합을 차단한 뒤 37°C에서 2시간 동안 blocking을 수행하였다. PBS-T로 4회 세척한 후, 배양 상등액 및 cytokine 표준액을 각 well에 100 µl씩 첨가하고 37°C에서 2시간 반응시켰다. 이후 biotinylated detection 항체(0.05 µg/ml)를 처리하고, avidin-HRP를 첨가 후 ABTS 기질을 반응시켜 ELISA reader로 405 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 각 조건은 3 well씩 반복하여 실험하였다.

4. Real-time qPCR을 이용한 유전자 발현 수준 측정

Total RNA(3-5µg) 혹은 mRNA(0.2-0.5µg)를 70°C에서 10분간 열처리하여 변성시킨 후, MMLV reverse transcriptase와 dNTP, oligo d(T)를 이용하여 제조회사가 제공하는 완충용액과 방법에 따라 42°C에서 45분간 반응하여 cDNA를 합성하였다. 합성된 cDNA(0.1-0.2 volume)에 증폭하고자 하는 특정 유전자의 primer와 2.5mM dNTP, Taq polymerase(0.3U/µl), 10×완충용액을 첨가하여 PCR을 30-35 cycle 수행하였다. 증폭된 유전자는 Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR 시스템을 사용하여 분석하였으며, 사용된 타겟 유전자는 mMUC5AC, mMIP2, mTARC, mCOX-2, mTRPA1, mTRPV1로 폐 세포에서 면역 및 염증 반응과 관련된 유전자 발현을 평가하기 위해 설정되었다. 처리물질로는 홍삼 추출물(RGE), 노루궁뎅이버섯 추출물(HEE), 및 홍삼과 노루궁뎅이버섯 복합 추출물(RHM)을 각각 100 µg/ml와 200 µg/ml의 두 가지 농도로 처리하여 유전자 발현 변화를 분석하였다.

5. 통계분석

모든 실험 결과는 평균 ± 표준편차로 표시하고 RStudio(version 2024.12.0 Build 467, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria)를 이용해 Kruskal-Wallis test를 시행하였으며, 사후검정으로는 Dunn 다중 비교를 시행하였다. p<0.05일 때 유의성이 있다고 판정하였다.

결 과

1. ELISA법을 이용한 면역세포활성 정량 평가

흡광도 측정기를 이용하여 홍삼 추출물, 홍삼 노루궁뎅이버섯 복합추출물을 각각 동시에 처리한 실험군의 세포활성물질의 수준을 측정하였다. 정상세포군, ConA를 500 ng/mL로 처리한 대조군, ConA를 500 ng/mL와 홍삼 및 홍삼복합물을 400 µg/mL, 200 µg/mL 농도로 동시에 처리한 실험군 IL-2, IL-4, IL-12, IFN-γ의 분비량을 측정하여 비교하였다. 그 결과, IL-2, IL-4, IL-12, IFN-γ의 분비량이 각각 농도에 의존적으로 증가하였다(Table 1).

Table 1. Cytokine density in RGE and RHM (pg/ml)

Density (µg/mL)	IL-2		IL-4		IL-12		INF-γ	
	Mean	S.E.	Mean	S.E.	Mean	S.E.	Mean	S.E.
RGE 200	15.86	0.68	15.75	0.19	30.30	1.18	118.87	1.46
RGE 400	19.07	1.14	17.50	0.48	36.63	0.43	131.28	2.35
RHM 200	15.70	1.06	16.00	0.73	27.28	1.17	117.06	0.68
RHM 400	18.48	0.77	17.62	0.69	31.54	0.60	127.87	1.43

1) IL-2

홍삼과 복합 추출물 모두 농도가 높아질수록 IL-2의 발현량이 증가하였다. Normal군, ConA군, RGE200군, RGE400군, RHM200군, RHM400군 간의 IL-2 발현량 차이를 분석한 결과, 그룹 간에 통계적으로 유의미한 차이가 확인되었다($\chi^2 = 18.562$, $df = 5$, $p < 0.01$). 이를 바탕으로 Dunn 다중검정을 통해 그룹 간 쌍별 비교를 수행한 결과, RGE400군이 ConA군보다 IL-2 발현량을 유의하게 증가시키는 것으로 나타되며, ConA군과 RHM400군 간에도 유의미한 차이가 확인되었다. 다른 군 간에는 유의미한 차이를 보이지 않아 특정 그룹의 효과가 두드러지지 않았다(Table 1, Fig. 1).

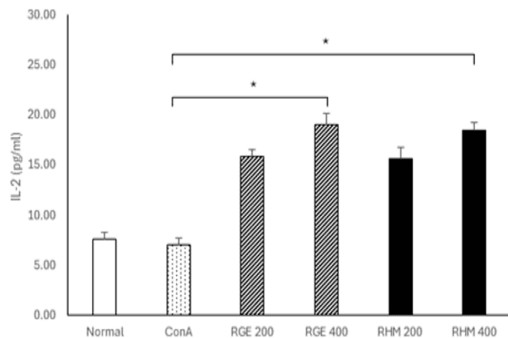


Fig. 1. Density of IL-2 in Normal, ConA, RGE 200, RGE 400, RHM 200, and RHM 400. Normal : Control group(non treated group). ConA : Density of IL-2 ConA 500 ng/mL. RGE 200 : Density of IL-2 RGE 200 µg/mL. RGE 400 : Density of IL-2 RGE 400 µg/mL. RHM 200 : Density of IL-2 RHM 200 µg/mL. RHM 400 : Density of IL-2 RHM 400 µg/mL (* $p < 0.05$)

2) IL-4

홍삼, 복합추출물 모두 농도에 의존적으로 IL-4의 발현량이 증가하였다. Normal군, ConA군, RGE200군, RGE400군, RHM200군, RHM400군 간의 IL-4 발현량 차이를 분석한 결과, 그룹 간에 통계적으로 유의미한 차이가 확인되었다($\chi^2 = 20.038$, $df = 5$, $p = 0.0012$). 이를 바탕으로 Dunn 다중검정을 수행하여 그룹 간 쌍별 비교를 진행한 결과, RGE400군이 ConA군보다 IL-4 발현량을 유의하게 증가시켰으며, RHM400군이 ConA군보다 높은 IL-4 발현량을 보였다. 다만, 다른 군 간 비교에서는 유의미한 차이가 나타나

지 않았다(Table 1, Fig. 2).

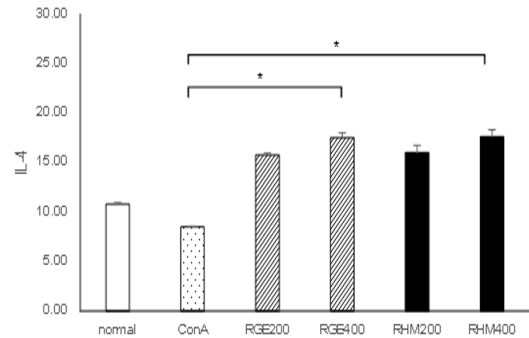


Fig. 2. Density of IL-4 in Normal, ConA, RGE 200, RGE 400, RHM 200, and RHM 400. Normal : Non treated group. ConA : Density of IL-4 ConA 500 ng/mL. RGE 200 : Density of IL-4 RGE 200 µg/mL. RGE 400 : Density of IL-4 RGE 400 µg/mL. RHM 200 : Density of IL-4 RHM 200 µg/mL. RHM 400 : Density of IL-4 RHM 400 µg/mL (* $p < 0.05$)

3) IL-12

IL-2의 발현량은 홍삼과 복합 추출물에서 모두 농도에 의존하여 증가하였다. 이 후 Kruskal-Wallis 검정을 통해 Normal군, ConA군, RGE200군, RGE400군, RHM200군, RHM400군 간 IL-12 발현량의 차이를 분석한 결과, 그룹 간 통계적으로 유의미한 차이가 확인되었다($\chi^2 = 19.478$, $df = 5$, $p < 0.01$). 이를 바탕으로 Dunn 다중검정을 수행하여 그룹 간 쌍별 비교를 진행하였다. RGE400군이 ConA군보다 IL-12 발현량을 유의하게 증가시켰으며, 또한 Normal군보다도 높게 나타났다. ConA군과 RHM400군 간에도 유의미한 차이가 있었다. 다만, 다른 비교군끼리 비교했을 때는 유의미한 차이를 보이지 않았다(Table 1, Fig. 3).

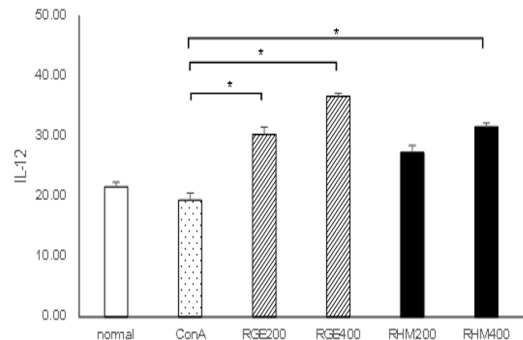


Fig. 3. Density of IL-12 in Normal, ConA, RGE 200, RGE 400, RHM 200, and RHM 400. Normal : Non treated group. ConA : Density of IL-12 ConA 500 ng/mL. RGE 200 : Density of IL-12 RGE 200 µg/mL. RGE 400 : Density of IL-12 RGE 400 µg/mL. RHM 200 : Density of IL-12 RHM 200 µg/mL. RHM 400 : Density of IL-12 RHM 400 µg/mL (* $p < 0.05$)

4) IFN-γ

홍삼과 복합 추출물 모두에서 IFN-γ 발현량은 농도가 높을수록 증가하였다. Kruskal-Wallis 검정을 통해 Normal군, ConA군, RGE200군, RGE400군, RHM200군, RHM400군 간의 IFN-γ 발현량 차이를 분석한 결과, 그룹 간 통계적으로 유의한 차이가 관찰되었다($\chi^2 = 20.764$, $df = 5$, $p < 0.01$). 이를 바탕으로 Dunn 다중

검정을 통해 그룹 간 쌍별 비교를 수행하였다. RGE400군이 ConA 군보다 IFN- γ 발현량을 유의하게 증가시켰다. Normal군 vs. RGE400 사이에는 유의미한 차이가 확인되지는 않았지만, RGE400 군은 Normal군에 비해 IFN- γ 발현량이 증가하는 경향을 보였다. ConA군과 RHM400군 간에도 유의미한 차이가 나타나지는 않았으나, RHM400군이 ConA군에 비해 IFN- γ 발현량이 증가하는 경향을 보였다. 다른 군 간 비교에서는 유의미한 차이가 관찰되지 않았다(Table 1, Fig. 4).

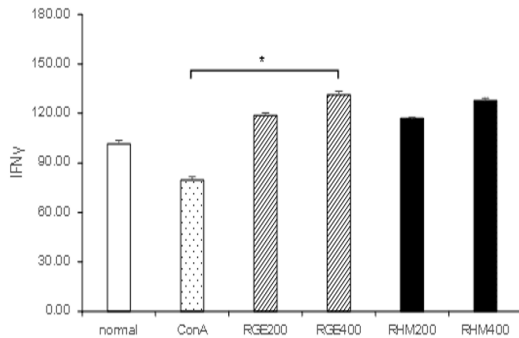


Fig. 4. Density of IL-12 in Normal, ConA, RGE 200, RGE 400, RHM 200, and RHM 400. Normal : non treated group. ConA : Density of IFN- γ ConA 500 ng/mL. RGE 200 : Density of IFN- γ RGE 200 μ g/mL. RGE 400 : Density of IFN- γ RGE 400 μ g/mL. RHM 200 : Density of IFN- γ RHM 200 μ g/mL. RHM 400 : Density of IFN- γ RHM 400 μ g/mL (* $p < 0.05$)

Table 2. MUC5AC mRNA RQ of PM10D-CTL in Lung

mMUC5AC	Normal	RGE 100	RGE 200	RHM 200	RHM 400
Mean \pm S.E	0.228 \pm 0.116	3.381 \pm 1.455	1.555 \pm 0.548	1.884 \pm 0.530	3.103 \pm 1.045

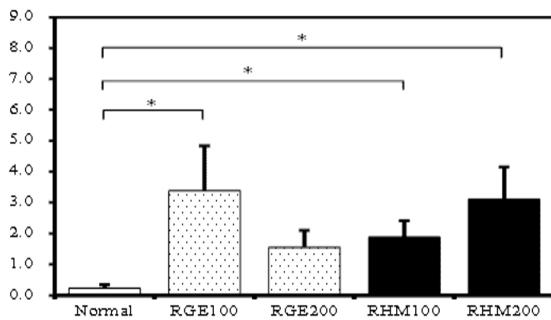


Fig. 5. MUC5AC mRNA RQ of PM10D-CTL in Lung. Normal : MUC5AC mRNA RQ of PM10D-CTL in non treated group. RGE 100 : MUC5AC mRNA RQ of PM10D-CTL in RGE 100 μ g/mL. RGE 200 : MUC5AC mRNA RQ of PM10D-CTL in RGE 200 μ g/mL. RHM 100 : MUC5AC mRNA RQ of PM10D-CTL in RHM 100 μ g/mL. RHM 200 : MUC5AC mRNA RQ of PM10D-CTL in RHM 200 μ g/mL (* $p < 0.05$)

2. Real-time qPCR을 이용한 유전자 발현수준 측정

1) mMUC5AC

흡삼과 복합물 모두에서 유전자 발현량은 Normal군에 비해 증가하였다. RGE군의 경우 100 μ g/mL에서 발현량이 최대로 나타났고, 200 μ g/mL에서는 이보다 발현량이 줄어들었다. 반면, RHM 군은 농도가 증가하였을 때 유전자 발현량이 증가하는 경향을 보였다. mMUC5AC 유전자의 발현량에 대한 Kruskal-Wallis 검정 결

과, 처리군 간 유의미한 차이($p = 0.00438$)가 확인되었다. 사후 Dunn 검정에서는 Normal군 대비 RGE100군, Normal군 대비 RHM100군, 그리고 Normal군 대비 RHM200군에서 발현량 차이가 유의미한 것으로 나타났다. 특히, RHM200 처리군에서 발현 억제 효과가 가장 두드러졌다(Table 2, Fig. 5).

2) mMIP2

RGE군의 경우 100 μ g/mL에서 발현량이 최대로 나타났고, 200 μ g/mL에서는 이보다 발현량이 줄어들었다. 반면, RHM군은 농도가 증가하였을 때 유전자 발현량이 증가하는 경향을 보였다. mMIP2 유전자에 대한 Kruskal-Wallis 검정 결과, 각 군간의 유의미한 차이가 관찰되지 않았다(Table 3, Fig. 6).

Table 3. MIP2 mRNA RQ of PM10D-CTL in Lung

mMIP2	Normal	RGE 100	RGE 200	RHM 200	RHM 400
Mean \pm S.E	0.317 \pm 0.059	1.916 \pm 0.273	1.329 \pm 0.194	0.897 \pm 0.144	1.230 \pm 0.277

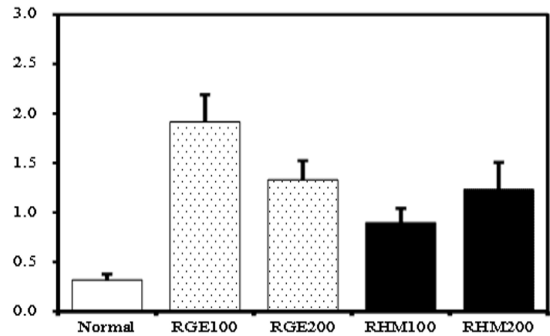


Fig. 6. MIP2 mRNA RQ of PM10D-CTL in Lung. Normal : MIP2 mRNA RQ of PM10D-CTL in non treated group. RGE 100 : MIP2 mRNA RQ of PM10D-CTL in RGE 100 μ g/mL. RGE 200 : MIP2 mRNA RQ of PM10D-CTL in RGE 200 μ g/mL. RHM 100 : MIP2 mRNA RQ of PM10D-CTL in RHM 100 μ g/mL. RHM 200 : MIP2 mRNA RQ of PM10D-CTL in RHM 200 μ g/mL

3) mTARC

RGE군의 경우 100 μ g/mL에서 발현량이 최대로 나타났고, 200 μ g/mL에서는 이보다 발현량이 줄어들었다. 반면, RHM군은 농도가 증가하였을 때 유전자 발현량이 증가하는 경향을 보였다. Kruskal-Wallis 검정에서 처리군 간 유의미한 차이가 확인되었다. Dunn 사후검정에서는 Normal군 대비 RGE100 μ g/mL 처리군 및 Normal군 대비 RHM200 μ g/mL 처리군에서 유의미한 차이를 나타냈다(Table 4, Fig. 7).

Table 4. TARC mRNA RQ of PM10D-CTL in Lung

mTARC	Normal	RGE 100	RGE 200	RHM 200	RHM 400
Mean \pm S.E	0.589 \pm 0.130	2.791 \pm 0.675	1.307 \pm 0.249	1.142 \pm 0.160	1.424 \pm 0.251

4) mCOX-2

RGE군에서는 100 μ g/mL 농도에서 유전자 발현량이 가장 높았으며, 200 μ g/mL에서는 발현량이 감소하는 양상을 보였다. 반면 RHM군에서는 농도가 증가함에 따라 유전자 발현량도 증가하는 경향이 관찰되었다. Kruskal-Wallis 검정 결과, 처리군 간 유의미한 차이

($p = 0.000882$)가 나타났다. 사후 Dunn 검정에서 Normal군 대비 RGE100군($p = 0.0051$)과 Normal군 대비 RHM200군($p = 0.0006$) 간 발현 억제 차이가 유의미한 것으로 나타났다. 특히, RHM200군에서 가장 강력한 억제 효과가 관찰되었다(Table 5, Fig. 8).

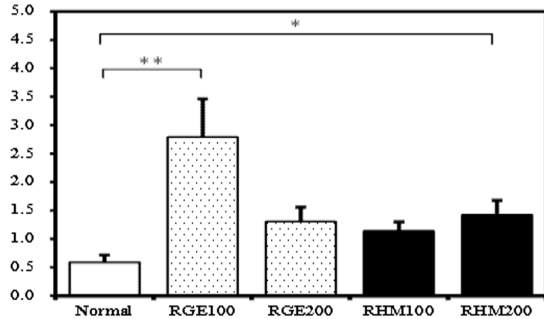


Fig. 7. TARC mRNA RQ of PM10D-CTL in Lung. Normal : TARC mRNA RQ of PM10D-CTL in non treated group. RGE 100 : TARC mRNA RQ of PM10D-CTL in RGE 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. RGE 200 : TARC mRNA RQ of PM10D-CTL in RGE 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$. RHM 100 : TARC mRNA RQ of PM10D-CTL in RHM 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. RHM 200 : TARC mRNA RQ of PM10D-CTL in RHM 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$)

Table 5. COX-2 mRNA RQ of PM10D-CTL in Lung

mCOX-2	Normal	RGE 100	RGE 200	RHM 200	RHM 400
Mean \pm S.E	0.925 \pm 0.077	2.273 \pm 0.418	1.332 \pm 0.135	1.259 \pm 0.126	2.055 \pm 0.170

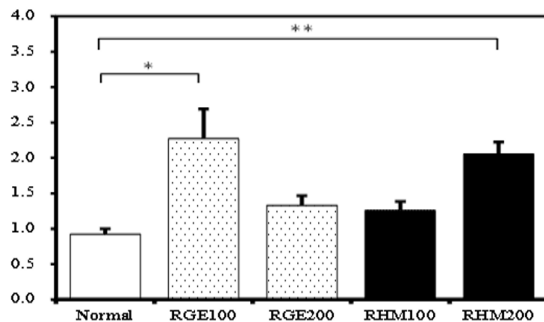


Fig. 8. COX-2 mRNA RQ of PM10D-CTL in Lung. Normal : COX-2 TARC mRNA RQ of PM10D-CTL in non treated group. RGE 100 : COX-2 mRNA RQ of PM10D-CTL in RGE 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. RGE 200 : COX-2 mRNA RQ of PM10D-CTL in RGE 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$. RHM 100 : COX-2 mRNA RQ of PM10D-CTL in RHM 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. RHM 200 : COX-2 mRNA RQ of PM10D-CTL in RHM 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$)

5) mTRPA1

RGE군은 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 유전자 발현이 가장 높았으며, 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서는 발현량이 감소하였다. 반면, RHM군은 농도가 높아질수록 유전자 발현량이 증가하는 경향을 나타냈다. Kruskal-Wallis 검정 결과, 각 군 간의 유의미한 차이는 관찰되지 않았다(Table 6, Fig. 9).

Table 6. TRPA1 mRNA RQ of PM10D-CTL in Lung

mTRPA1	Normal	RGE 100	RGE 200	RHM 200	RHM 400
Mean \pm S.E	1.259 \pm 0.207	2.636 \pm 0.675	1.622 \pm 0.768	2.168 \pm 0.655	1.339 \pm 0.408

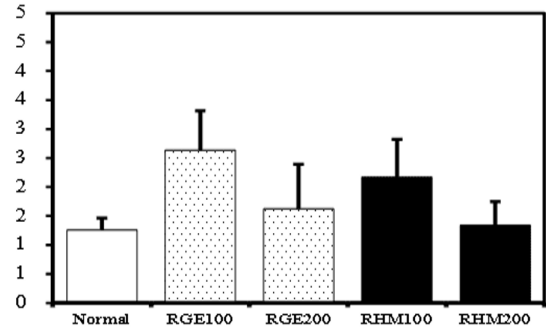


Fig. 9. TRPA1 mRNA RQ of PM10D-CTL in Lung. Normal : TRPA1 mRNA RQ of PM10D-CTL in non treated group. RGE 100 : TRPA1 mRNA RQ of PM10D-CTL in RGE 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. RGE 200 : TRPA1 mRNA RQ of PM10D-CTL in RGE 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$. RHM 100 : TRPA1 mRNA RQ of PM10D-CTL in RHM 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. RHM 200 : TRPA1 mRNA RQ of PM10D-CTL in RHM 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$

6) mTRPV1

100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 RGE군의 유전자 발현량이 최고치를 기록한 반면, 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서는 감소하였다. 그러나 RHM군은 농도가 높아질수록 유전자 발현량이 증가하는 패턴을 보였다. Kruskal-Wallis 검정에서 처리군 간 유의미한 차이가 확인되었다. Dunn 사후검정에서는 Normal군 대비 RGE100군에서 유의미한 발현 억제 효과가 관찰되었으며, 나머지 처리군 간에는 통계적으로 유의미한 차이가 나타나지 않았다(Table 7, Fig. 10).

Table 7. TRPV1 mRNA RQ of PM10D-CTL in Lung

mTRPV1	Normal	RGE 100	RGE 200	RHM 200	RHM 400
Mean \pm S.E	1.067 \pm 0.275	3.332 \pm 0.754	1.416 \pm 0.205	1.904 \pm 0.351	2.036 \pm 0.364

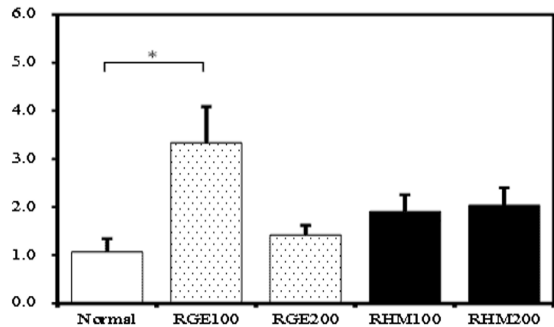


Fig. 10. TRPV1 mRNA RQ of PM10D-CTL in Lung. Normal : TRPV1 TARC mRNA RQ of PM10D-CTL in non treated group. RGE 100 : TRPV1 mRNA RQ of PM10D-CTL in RGE 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. RGE 200 : TRPV1 mRNA RQ of PM10D-CTL in RGE 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$. RHM 100 : TRPV1 mRNA RQ of PM10D-CTL in RHM 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. RHM 200 : TRPV1 mRNA RQ of PM10D-CTL in RHM 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$. (* $p < 0.05$)

고 찰

면역체계는 감염성 병원체뿐만 아니라 무해한 환경성 분자, 종양, 자기 분자에 대한 반응을 포함하며, 이를 담당하는 세포, 조직, 분자들을 면역체계라 한다. 선천면역은 적응면역을 활성화하는 신호를 제공하며, 적응면역은 T세포와 B세포가 미생물 항원을 특이

적으로 인식해 유도되며, 항원제시세포는 미생물 항원을 포획해 T 세포에 전시한다. MHC 분자는 항원을 T세포에 제시하며, CD8+ T 세포와 CD4+ T세포는 각각 세포독성 T세포와 보조 T세포로 활성화된다. B세포는 항체를 분비해 미생물과 독소를 중화하거나 제거하는 역할을 한다. 선천면역은 감염에 즉각적으로 반응하고 조직 침입을 방어하는 반면, 적응면역은 병원체에 특이적인 반응을 통해 강력한 방어를 제공하며 면역 기억 현상을 통해 반복적인 감염에 더 효과적으로 대응한다. 선천면역은 피부와 점막 등 상피장벽을 통해 1차 방어를 담당하며, 적응면역은 림프구와 항체를 통해 다양한 항원을 인지하고 반응한다¹⁾.

천연물은 예로부터 면역 증진을 위해 많이 이용되어 왔으며, 다양한 천연물질이 면역체계의 기능을 강화하는 데 중요한 역할을 한다^{18,19)}. 그 중에서도 버섯은 그 특유의 향미와 약리 작용으로 인해 이전부터 식용 및 약용으로 널리 이용되어 왔으며, 현대에서도 식품 및 약품의 원료로 다용되고 있다¹⁹⁾. 버섯은 단백질 함량이 높고 칼로리가 낮아 건강식품으로서 중요한 역할을 하며, 특히 필수 아미노산을 다량 함유하고 있어 단백질 공급원으로 유용하다. 또한, 식이섬유가 풍부해 소화 건강을 돕고, 장 기능을 개선하는 효과가 있다. 버섯은 비타민 B군과 칼슘, 철, 칼륨 등 중요한 미네랄을 다량 함유하여 균형 잡힌 영양 섭취에 기여한다²⁰⁾. 버섯에 함유된 β -glucan과 같은 다당류는 면역세포의 활성화를 촉진하고, 항종양 및 항산화 효과를 나타낸다^{21,22)}. 이러한 면역 조절 효과는 버섯의 다양한 생리활성 물질에 기인하며, 이는 면역 반응을 조절하고 염증을 완화하는 데 기여한다. 특히, 노루궁뎅이버섯은 항암, 면역력 증강, 만성위염 치료 등 다양한 약리작용을 가지고 있어 면역 증진에 유용한 천연물질로 주목받고 있다. 노루궁뎅이버섯은 오래 전부터 식용 및 약용으로 이용되어 왔으며, 항암, 면역력 증강, 만성위염 치료 등 다양한 약리작용을 가지고 있다. 최근 연구에서는 노루궁뎅이버섯의 항종양, 콜레스테롤 저하, 혈압 및 혈당 강하 등의 건강 기능성이 보고되었다⁹⁾.

인삼은 전통적으로 동아시아 지역에서 다양한 질병을 치료하는 데 활용되어 왔다. 홍삼은 4-6년 된 인삼을 증숙한 후 건조하는 과정을 거쳐 가공한 것을 말하며, 홍삼으로 가공되는 과정을 거쳐 새로운 성분의 사포닌이 합성된다²³⁾. 홍삼의 약리작용은 인삼과 크게 다르지 않으나, 항암, 항산화, 면역 증진 등의 효능이 인삼에 비해 뛰어나다는 연구 결과가 있다²⁴⁾. 이 외에도 홍삼이 항알레르기 및 항염증 효과가 있으며, 면역기능을 활성화한다는 연구가 존재한다^{25,26)}. 김 등은 발효홍삼이 제 2형 당뇨병 환자의 혈당과 인슐린 저항성을 조절할 수 있다고 보고하였다²⁷⁾.

이처럼 노루궁뎅이버섯과 홍삼의 면역 활성화 효과는 각각 입증된 바 있으나, 두 성분을 혼합한 복합물의 세포 독성 및 면역 활성화 효과에 관한 연구는 아직 부족한 실정이다. 홍삼은 면역 증진 효과에 대한 연구가 다양하고 건강기능식품으로도 대중적으로 이용되지만, 가격이 상대적으로 비싸고 쓴맛으로 인해 단일물질로 섭취하기 어려운 단점이 있는 반면, 노루궁뎅이버섯은 저렴하고 구하기 쉬우며, 맛이 비교적 부드럽다. 다양한 방식으로 활용이 가능하다. 이에 두 물질의 복합물의 세포독성 및 효능을 비교하고 더 나아가 치료제로서의 가능성을 탐구하기 위해 홍삼 단독 추출물을 양성 대

조군으로 설정하여 본 세포실험 연구를 진행하였다.

우선, 홍삼과 복합추출물(RHM)을 200 μ g/mL와 400 μ g/mL 농도로 처리하여 IL-2, IL-4, IL-12, IFN- γ 의 분비량을 측정하였다. 실험 결과, 모든 처리군에서 IL-2, IL-4, IL-12, IFN- γ 의 분비량이 Normal군에 비해 농도 의존적으로 증가하였다. 특히, RGE 400군과 RHM 400군에서 IL-2, IL-4, IFN- γ 의 분비량이 ConA군보다 현저히 높았으며, IL-12의 분비량은 RGE 400군에서 Normal군과 ConA군보다 유의미하게 증가하였다.

다음으로는 홍삼 추출물과 홍삼 노루궁뎅이버섯 복합추출물 200 μ g/mL, 400 μ g/mL를 처리한 비장세포에서 IL-2, IL-4, IL-12, INF- γ 의 분비량을 측정하여 Normal군 및 ConA군과 비교하였다. IL-2의 분비량은 모든 실험군에서 Normal군과 ConA군에 비해 농도 의존적으로 증가하였으며, RGE 400군, RHM 400군에서 ConA군에 비해 유효하게 농도가 증가하는 것으로 나타났다. IL-4의 분비량은 모든 실험군에서 Normal군과 ConA군과 비교했을 때 농도 의존적으로 증가한 것을 확인하였으며, RGE 400군, RHM 400군에서 ConA군에 비해 유효하게 농도가 증가하였다. IL-12는 모든 실험군에서 Normal군과 ConA군에 비해 농도 의존적으로 증가하였으며, RGE 400군에서 Normal군과 ConA군에 비해 유의한 차이를 보였다. INF- γ 의 분비량은 모든 실험군에서 Normal군과 ConA군보다 농도 의존적으로 증가하였으며, RGE 400군과 RHM 400군에서 ConA군에 비해 유의한 차이를 보였다.

위의 실험 결과에서 RGE군과 RHM군 모두 IL-2, IL-4, IL-12, INF- γ 의 분비량을 증가시키는 경향을 보였다. INF- γ , IL-2, IL-12의 생성량 증가를 통해 홍삼과 복합추출물이 T 림프구를 활성화하여 사이토카인 생성이 촉진된다는 것을 확인할 수 있었다. 또한, IL-4의 분비의 증가로 B 림프구에 의해 발생하는 체액성 면역반응이 활성화된다는 것을 확인할 수 있었다.

또한, 마우스의 폐 세포로부터 mMUC5AC, mMIP2, mTARC, mCOX-2, mTRPA1, mTRPV1 유전자의 발현 양상을 분석하여 홍삼 및 노루궁뎅이버섯 추출물의 효과를 평가하였다. mMUC5AC와 mTARC는 점액 분비 및 면역세포의 이동에 중요한 역할을 한다^{28,29)}. 본 실험의 결과, RGE100과 RHM200 처리군에서 발현 억제 효과가 두드러져 점막 보호 및 과도한 면역반응 억제 효과를 제시하였다. mCOX-2는 염증 매개 유전자로 염증 자극에 의해 활성화되며, 프로스타글란딘 합성을 촉진하여 염증과 통증을 유발한다³⁰⁾. 각 추출물 처리 결과, RHM200 처리군에서 발현 억제 효과가 가장 강력하게 나타나 염증 완화 가능성을 보여주었다. mMIP2는 염증 반응 동안 세포 외 기질 분해를 통해 염증 부위의 세포 이동과 침투를 촉진하고, 항염증성 사이토카인의 방출을 조절하여 염증 반응을 증폭시키며, 혈관 내피 성장 인자(VEGF) 및 TGF- β 경로를 통해 염증성 신호 전달을 촉진한다³¹⁾. mTRPA1 유전자는 다양한 유해 화학 자극을 감지하여 통증과 신경성 염증을 유발한다. 특히, mTRPA1은 콜레스테롤이 풍부한 막 도메인에 위치하며, 콜레스테롤과의 상호작용을 통해 채널의 민감도와 활성화가 조절된다³²⁾. mMIP2와 mTRPA1은 모든 처리군 간 유의미한 발현 차이가 관찰되지 않아 홍삼 및 복합 추출물의 직접적인 효과가 없음을 시사한다. mTRPV1은 통증 및 염증 조절에 관여하는 유전자이며, 다양한

내인성 및 외인성 작용제에 의해 활성화되며, 염증 반응 동안 중요한 역할을 한다. 특히, mTRPV1은 20-HETE와 같은 지방산 대사 산물에 의해 활성화되어 염증성 통증을 유발하고, 단백질 키나제 A(PKA) 및 단백질 키나제 C(PKC) 경로를 통해 채널의 민감도를 조절한다³³⁾. 본 실험에서 각 추출물을 처리한 결과, RGE100 처리 군에서 발현 억제 효과가 관찰되었다. 이러한 결과는 홍삼 및 노루궁뎅이버섯 추출물이 염증 및 면역 조절에 선택적으로 기여할 가능성을 시사한다.

본 연구의 결과로 볼 때, 노루궁뎅이버섯과 홍삼의 복합추출물은 면역세포의 기능의 활성화를 통해 면역 기능의 증진에 효과적으로 작용할 수 있다는 가능성을 시사한다. 그러나 연구에서 각 실험군마다 사용된 비장세포의 well의 수가 제한적이었기 때문에 유효성을 평가하는 데 한계가 있었으며, 본 연구는 동물세포 모델을 대상으로 한 실험이므로 인체를 대상으로 한 추가적인 임상 연구가 필요하다. 또한, 일부 물질의 경우 고농도(HEE 400)의 처리에서 세포 독성이 나타났기 때문에 복합 추출물의 안전성에 대한 논의가 더 필요함을 시사한다. 본 연구에서 노루궁뎅이버섯과 홍삼의 복합추출물의 효과는 단일 추출물보다 강력한 것으로 보이지만, 추출물 간의 상호작용에 대한 메커니즘을 명확히 규명하기 위한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결 론

본 연구는 홍삼과 노루궁뎅이버섯 복합 추출물이 면역세포 활성화에 미치는 영향을 평가하였다. 실험 결과, 복합 추출물은 단일 추출물보다 면역세포의 활성화에 더 효과적임을 확인하였다. 특히, IL-2, IL-4, IL-12, INF- γ 의 분비량이 농도 의존적으로 증가하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 복합 추출물이 면역 기능 증진에 유용할 수 있음을 시사함으로써 복합 추출물의 잠재적 활용 가능성을 제시하였다.

감사의 글

본 연구는 2021년도 대전대학교 산학협력단의 지원에 의해 수행됨.

References

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and molecular immunology. Philadelphia: Elsevier, 2014.
2. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, Baker DL. Basic immunology. Philadelphia: Elsevier, 2024.
3. Grimble RF. Immunonutrition. *Nutrition* 2005;21(2):216-22.
4. Kim HY. Nutrition and immunity. *J Nutr Health* 1992;25(4):312-20.
5. Bae SK, Cho SH, Ahn TK, Kim JI, Kim BH, Lim JH. Modulatory effects of herbal medicine extracts on cytokine release in immune response of RAW 264.7 and

- TK-1 cells. *Korean J Orient Prev Med* 2018;39(6):1244-55.
6. Chang ST, Buswell JA. Mushroom nutraceuticals. *Food Rev Int* 1996;12(5):473-76.
7. Kim DH, Park SR, Debnath T, Hasnat MA, Pervin M, Lim BO. Evaluation of antioxidant and anti-inflammatory effects of *Herichium erinaceus* water extracts. *Food Sci Biotechnol* 2013;22(2):112-17.
8. Mori K, Obara Y, Hirota M, Azumi Y, Kinugasa S, Inatomi S, et al. Nerve growth factor-inducing activity of *Herichium erinaceus* in 1321N1 human astrocytoma cells. *Biol Pharm Bull* 2008;31(9):1727-32.
9. Kim MU, Lee EH, Jung HY, Lee SY, Cho YJ. Antimicrobial activity of *Herichium erinaceus* extracts against pathogenic bacteria. *Korean J Mycol* 2019;47(2):173-79.
10. Khan MA, Tania M, Liu R, Rahman MM. *Herichium erinaceus*: an edible mushroom with medicinal values. *Food Rev Int* 2013;29(1):1-6.
11. Kwon SC, Park GY, Jeong JH, Lee KH. Chemical Composition of *Herichium erinaceum* Cultured by the Extracts of *Angelica keiskei* and the Byproduct of *Angelica keiskei*. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 2008;37(9):1168-73.
12. Wang D, Zhu X, Tang X, Li H, Xu Y, Chen D. Auxiliary antitumor effects of *Herichium erinaceus* proteins via gut microbiota modulation. *Food Funct* 2020;11(6):1872-90.
13. Lee JS, Hong EK. *Herichium erinaceus* enhances doxorubicin-induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma cells. *Int J Med Mushrooms* 2010;12(3):297-305.
14. Kim SP, Kang MY, Kim JH, Nam SH, Friedman M. Antitumor effects of *Herichium erinaceus* extracts in tumor-bearing mice. *J Agric Food Chem* 2011;59(18):9861-69.
15. Yang BK, Park JB, Song CH. Hypolipidemic effect of an exo-biopolymer from submerged culture of *Herichium erinaceus*. *J Microbiol Biotechnol* 2003;13(6):1292-98.
16. Kwak YS, Park JD, Yang JW. Present and prospect of red ginseng efficacy research. *Food Ind Nutr* 2003;8(2):30-37.
17. Park YC, Lim JD, Kim JB, Lee SD. Review of red ginseng: mechanisms for pharmacodynamics and toxicity. *Korean J Ginseng Sci* 2012;33(3):200-30.
18. Stephen J, Manoharan D, Radhakrishnan M. Immune boosting functional components of natural foods and its health benefits. *Food Production, Processing and Nutrition*. 2023;5(1):61.

19. Munteanu C, Schwartz B. Relationship between nutrition and the immune system. *Front Nutr* 2022;9:1082500.
20. Song CH. Nutritional value and physiological activity of mushrooms. *J Mushroom Sci Prod* 2007;5(4):113-25.
21. Breene WM. Nutritional and medicinal value of specialty mushrooms. *J Food Technol* 1990;53(10):883-95.
22. Mattila P, Suonpää K, Piironen V. Functional properties of edible mushrooms. *Trends Food Sci Technol* 2000;16(7):694-96.
23. Lee SM. Mass balance of protopanaxtriol ginsenosides in red ginseng process. *Korean J Food Sci Technol* 2015;47(3):223-28.
24. Nam KY. Comparative understanding of red and white ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer). *Korean J Ginseng Sci* 2005;29(1):1-18.
25. Park HJ, Jung DH, Joo HM, Kang NS, Jang SA, Lee JG, Sohn EH. Comparative anti-allergic and anti-inflammatory effects of fermented red ginseng. *J Ginseng Res* 2010;23(5):415-22.
26. Sohn EH, Yoon JW, Koo HJ, Park DW, Jeong YJ, Namkoong S, et al. Immunomodulating effects of red ginseng on cytokine release in vivo. *J Ginseng Res* 2012;36(5):578-85.
27. Kim HO, Park MJ, Han JS. Effects of fermented red ginseng on blood glucose and insulin resistance in type 2 diabetes. *Korean J Food Sci Technol* 2011;43(5):696-703.
28. Young HWJ, Williams OW, Chandra D, Bellinghausen LK, Pérez G, Suárez A, et al. Central role of Muc5ac expression in mucous metaplasia. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007;37(3):273-78.
29. Ott G, Reichmann D, Boerger C, Cascorbi I, Bittner F, Mendel R, et al. Functional characterization of MARC1 and MARC2 variants. *Drug Metab Dispos* 2014;42(4):718-25.
30. Kang YJ, Wingerd BA, Arakawa T, Smith WL. Cyclooxygenase-2 gene transcription in a macrophage inflammation model. *J Biol Chem* 2025;177(11):8111-20.
31. Wolosowicz M, Prokopiuk S, Kaminski TW. Complex role of matrix metalloproteinase-2 in health and disease. *Int J Mol Sci* 2024;25(24):13691.
32. Startek JB, Boonen B, López-Requena A, et al. Mouse TRPA1 function modulated by cholesterol interaction. *eLife* 2019;8:e46084.
33. Benítez-Angeles M, Morales-Lázaro SL, Juárez-González E, Rosenbaum T. TRPV1: structure, endogenous agonists and mechanisms. *Int J Mol Sci* 2020;21(10):3421.