

秘方奪名散의 投與가 마우스의 先天的 및 特異 免疫反應에 미치는 影響

姜惠永* · 康舜洙**

〈 目 次 〉

I. 緒 論	IV 考 察
II. 實驗材料 및 方法	V. 結 論
III. 實驗成績	參考文獻

I. 緒 論

韓醫學에서는 疾病의 發生 및 進行을 正邪抗爭의 過程으로 把握하였는데,¹⁾ 正은 正氣를 指稱하는 것으로 六淫 食積 痰飲等의 邪氣에 對應하는 人體一切의 抗病力 및 正常的인 生理機能을 總稱하고, 邪는 邪氣로서 發病因子를 總稱한다.^{2,3)} 正氣는 疾病 發生에 있어서 內的 根據가 되므로 人體의 正氣가 旺盛하면 邪氣가 쉽게 侵犯하지 못하며, 邪氣가 正氣의 虛한 틈을 타서 侵犯하면 비로소 疾病이 發生되니^{2,4,5)}, 素問 刺法論¹⁰⁾에 “正氣存內 邪不可干” 靈樞 百病始生篇¹¹⁾에 “風雨寒熱 不得虛 邪不能獨傷人 卒然逢疾風暴雨而不病者 蓋無虛 故邪不能獨傷人” 素問 評熱病論¹⁰⁾에는 “邪之所湊 其氣必虛”라 하였다.

正氣의 作用을 西洋醫學의 免疫反應과 比較할 수 있는데 免疫反應이란 動物體內에 存在하는 自己防禦體系로서 外部로 부터 侵入해 오는 各種 異物質이나 生命體를

自己自身과 區別해 내어 이 侵入者를 防禦하는 生物學的 現象이다. 事實上 수없이 많은 毒性的物質이나 微生物에 露出되어 있는 狀況에서 스스로를 保護함으로써 個體의 生命을 維持하고자 하는 이러한 現象은 後天性 免疫缺乏症을 包含한 各種 免疫缺乏症의 境遇에서 처럼 일단 免疫體系가 破壞되면 그 免疫體系를 補完해 주지 않는 한 어떤 方法으로도 生存할 수 없음을 볼 때 自明하다고 하겠다. 더우기 癌細胞와 같이 個體內에서 發生하는 境遇도 그 監視機能은 免疫體系가 作用하고 있다.¹⁾

免疫反應의 한 例로 炎症反應을 들 수 있는데 Ascoff는 炎症의 概念에 대해 “炎症은 生體의 細胞組織에 무언가 氣質的 變化를 가져오는 侵襲이 加해질 때 生體가 再生 및 回復等의 防禦反應으로써 對應하는 過程이다”라고 定義하여 炎症을 生理的인 側面에서 理解하고 있지만 最近에는 炎症이 生體의 Homeostasis를 障礙한다는 點에서 炎症을 疾病으로 認識하고 있다.¹²⁾

*圓光大學校 大學院 韓醫學科

**圓光大學校 韓醫科大學 方劑學教室

炎症反應에 의한 腫瘍 등의 樣相과 비슷한 內容을 韓醫學에서는 主로 癰疽分野에서 具體적으로 다루고 있는데 靈樞 癰疽篇¹¹⁾에 “營衛稽留于經脈之中則血泣而不行 不行則衛氣從之 而不通 壅遏而不得行 故熱 大熱不止 熱勝則肉腐 肉腐則爲膿”이라 하였고 王⁴⁵⁾은 “膿之來 必由氣血 氣血之化 必由溫也”라 하였다. 癰疽는 發熱, 發赤, 疼痛, 浮腫 등의 症候群이 隨伴되므로 炎症의 症候群과 비슷하다고 認識되며 이것이 甚하였을 때는 肉腐가 되고 肌肉과 筋骨에 異狀이 發生한다 하였으니³⁸⁾ 癰疽는 炎症性 疾患으로, 特히 疽症인 狀態는 腫瘍이나 癌腫에 가까운 것으로 解釋된다.^{28,42)}

炎症에 對한 韓方療法의 免疫效果를 立證하기 爲한 癰疽方의 免疫學的 實驗研究로는 黃連解毒湯의 緬羊赤血球에 對한 免疫反應과 托理消毒飲의 緬羊赤血球에 對한 免疫反應 및 仙防活命散이 마우스의 로질 形成 및 抗體生成에 미치는 影響等^{13,14,16)}이 있다. 이에 著者는 丹溪心法⁴¹⁾에 最初로 收錄되어 一切癰疽 無名惡瘡를 治療하는데 使用되는 秘方奪名散을 選擇하여 免疫機轉에 對해 여러 角度에서 測定하여 有意한 知見을 얻었기에 이를 報告하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 材 料

1) 動 物

生後 8주~10주 사이의 BALB/C 생쥐 (圓光大學校 韓醫科大學 實驗動物 飼育室)는 cage (18×20 cm)당 6個體의 密度를 維持하였으며, 2週日間 室溫에서 물과 飼料 (제일사료주식회사)를 충분히 供給하고, 낮과 밤의 週期를 12時間씩 調節하면서 가

능한 한 스트레스를 받지 않도록 飼育한 다음 수컷만 本 實驗에 使用하였다.

2) 藥 材

本 實驗에서 使用한 藥材는 圓光大學校 韓醫科大學 附屬全州韓方病院에서 購入한 後 精選하여 使用하였으며 穿甲山의 修治는 李³⁶⁾의 方法에 依據하고 煎湯時 使用한 好酒는 淸하(백화양조)를 擇하였다.

秘方奪名散은 東醫寶鑑⁹⁾에 準하였으며 內容과 分量은 다음과 같다.

2. 方 法

1) 檢液의 調劑

上記한 處方 2貼 分量을 2,000 ml round flask에 넣고 蒸溜水 410 ml와 酒 200 ml를 加하여 100℃로 4時間동안 煎湯하여 濾過布로 濾過하였으며, 濾液을 1,000 rpm에서 20分間 遠心分離하여 얻은 上등液을 다시 重湯하여 50 ml씩으로 濃縮하여 檢液을 使用하였다.

2) 檢液의 投與

檢液의 생쥐 個體當 매일 1회 BB₁은 150 mg/0.2 ml, BB₂는 300 mg/0.2 ml, BB₃는 450 mg/0.2 ml를 14日 동안 經口投與하였고, 對照群은 同量의 0.85% Saline을 같은 方法으로 投與했다.

3) 貪食細胞의 反應 酸素 中間 物質 (ROI: Reactive Oxygen Intermediate) 生成能의 測定⁶⁴⁻⁶⁷⁾

(1) 多形核 白血球(P.M.N) 細胞의 誘導

藥物이 投與된 생쥐의 腹腔에 滅菌된 4.5% Brewer's modified thioglycolate medium 3 ml를 注射하고 24時間 後에 Phosphate

秘方奪名散의 投與가 마우스의 先天的 및 特異 免疫反應에 미치는 影響

韓藥名	生藥名(學名)	重量(g)
天花粉	RADIX TRICHOSANTHIS (<i>Trichosanthes kirilowii</i> MAX)	7.5 g
穿山甲 (蛤粉炒)	SQUAMA MANITIS (<i>Manis pentadactyla</i> L.)	3.75 g
赤芍藥	RADIX PAEONIAE RUBRA (<i>Paeonia japonica</i> MIYABE et TAKEDA.)	3.75 g
甘草節	RADIX GLYCYRRHIZAE (<i>Glycyrrhiza uralensis</i> FISCH)	3.75 g
防風	RADIX LEDEBOURIELLAE (<i>Ledebouriella divaricate</i> UEKI.)	2.6 g
白芷	RADIX ANGELICAE DAHURICAE (<i>Angelica dahurica</i> BENTH)	2.6 g
皂角刺	SPINA GLEDITSIAE (<i>Gleditsia sinensis</i> LAM)	2.6 g
金銀花	FLOS LONICERAE (<i>Lonicera japonica</i> THUNB)	2.6 g
陳皮	PERICARPIUM CITRINOBILIS (<i>Citrus unshiu</i> MARCOR)	2.6 g
當歸尾	RADIX ANGELICAE GIGANTIS (<i>Angelica gigas</i> NAKAI)	1.88 g
貝母	BULBUS FRITILLARIAE (<i>Fritillaria ussuriensis</i> MAXIM)	1.88 g
乳香	MASTRIX (<i>Boswellia carterii</i> BIRDW)	1.88 g
1 貼	Total amount	37.39 g

Buffered Saline(PBS, pH 7.2)으로 洗滌하여 多形核白血球가 豊富한 peritoneal exudate cell(PEC)을 얻었다. PEC는 차가운 PBS(pH 7.2)로 400 g에서 10 分間 遠心分離하여 2 회 洗滌한 後 veronal buffered Saline(Ca^{2+} , Mg^{2+} , albumin, glucose 포함)에 5×10^6 cells/ml이 되도록 適正한 후 Chemiluminescence (CL)로 測定하였다.

(2) 大食細胞(Macrophage)의 誘導

藥物이 投與된 생쥐의 腹腔에 滅菌된 4.5 % Brewer's modified thioglycolate medium 3 ml를 注射하고 3日 後에 PBS(pH 7.2)로 腹腔을 洗滌하여 大食細胞가 豊富한 PEC를 얻었다.

PEC는 PBS로 2 회 洗滌後 Veronal buffered Saline에 5×10^6 cells/ml가 되도록 適正하여 CL로 測定하였다.

(3) LUCIGENIN에 의해 誘導된 CL의 測定

Veronal Bufferd Saline을 利用해 5×10^6 cells/ml로 適正된 PEC單細胞 浮遊液을 Luminometer(LB9505, Berthold)내에서 37 °C로 15~30 分 동안 Preincubation 시킨후 O_2 를 測定할 수 있는 Chemiluminogenic probe인 10 mM Lucigenin 10 μl 를 注入하고 安定시킨 後 多形核白血球나 大食細胞를 刺戟 시킬 수 있는 5.3 μm Phorbol myristate acetate(PMA) 10 μl 를 注入하고 37 °C 條件에서 약 60 分간 CL을 測定했다.

(4) Luminol에 의해 誘導된 CL의 測定

Veronal Bufferd Saline을 利用해 5×10^6 cells/ml로 適正된 PEC單細胞 浮遊液을 Luminometer (LB9505 Berthold)내에서 37 °C로 15~30 分間 Preincubation 시킨후 H_2O_2 를 測定할 수 있는 Chemiluminogenic

Probe인 10 mM의 Luminol 10 μl 를 注入하고 37 °C에서 安定化 시킨 後 多形核白血球나 大食細胞를 刺戟시킬 수 있는 5.3 μm Phorbol myristate acetate(PMA) 10 μl 를 注入하고 37 °C 條件에서 약 60 分간 CL을 測定했다.

4) 自然致死細胞(Natural Killer Cell : NK Cell)의 活性度 測定⁶⁸⁻⁷³⁾

(1) 標的細胞(Target Cell)

생쥐의 自然致死細胞에 感受성이 銳敏한 YAC-1 細胞를 NK Cell 活性度 測定에 使用하였다. YAC-1 細胞는 連續 浮遊培養法으로 維持 하였으며, 培養液은 10 % Fetal Bovine Serum과 Penicillin(100 $\mu\text{g}/\text{ml}$), Streptomycin(100 μ/ml)과 Gentamycin(100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)이 첨가된 RPMI 1640 medium을 使用하였다.

(2) 效果細胞(Effector Cell)

藥物이 投與된 實驗群 생쥐로 부터 腹部를 切開하여 Spleen을 摘출한 다음 3 ml의 HBSS가 들어 있는 Petridish로 옮긴 후 Slide glass로 으깨어서 細胞浮遊液을 만들었다. 細胞浮遊液을 Mesh로 거른 다음 Ficoll-Paque를 使用하여 Hemocytometer를 使用하여 400 g로 遠心分離시켜서 單核細胞層을 얻었다. 單核細胞는 Hank's Balanced Salt Solution(HBSS)로 3回 洗滌하여 4×10^6 개의 細胞로 適定한 후 自然致死細胞 活性度 測定에 使用하였다.

(3) 自然致死細胞 活性度 分析

C'FDA의 working solution (150 $\mu\text{g}/\text{ml}$)은 C'FDA stock solution (20 mg/ml acetone) 7.5 μl 를 1 ml의 HBSS에 稀釋시켜서 15 分 이내 實驗에 使用하였다. 標的細胞의 라벨은 C'FDA working solution 1 ml에 2×10^5 개의 YAC-1 細胞를 浮遊시켜서 37 °C에서

30 分間 培養시켰다. 培養後 2 ml의 HBSS로 3 회 洗滌한 후 自然致死細胞 活性度 測定에 使用하였다. C'FDA에 라벨된 YAC-1 細胞는 2×10^4 개로 適定한 후 200 μ l의 RPMI 1640 medium이 들어 있는 5 mm round-bottomed polystyrene tube에 效果細胞와 함께 培養하였다. 效果細胞: 標的細胞의 比率는 4:1의 比率로 培養하였으며, 融合을 向上시키기 위하여 200 g로 약 30 초간 遠心分離시켜 5% CO₂ Incubator(37 °C)에서 培養하였다. 培養은 3 시간 동안 遂行하였으며, 流式細胞分離分析機(FCM)로 測定할 때까지 4 °C의 暗冷狀態에서 保管하였다. 또한 C'FDA에 라벨된 2×10^4 개의 YAC-1 細胞만 200 μ l RPMI 1640 medium에서 實驗群과 同一한 時間으로 培養하였으며, 이것을 對照群으로 使用하였다. YAC-1 細胞의 生存率은 trypan blue (Flou Labs) exclusion方法과 流式細胞分離分析機로 測定한 結果 90% 이상 이었다.

自然致死細胞에 의해 致死되는 標的細胞의 測定은 488 nm세기로 發光된 Argon-ion laser beam 20 mW 出力에서 分析되었으며, 綠色螢光物質(Fluorescein isothiocyanate)은 530 nm의 band pass filter에서 選擇의으로 透過感知되었다. 感知된 情報는 BDIS의 Consort 30 computer program에 의하여 백분율로 計算되었다. 自然致死細胞의 活性度는 다음 公式에 의해 計算되었다.

$$\text{NK Cell Activity(\%)} = \frac{\text{TE}_0 - \text{TE}_3}{\text{TE}_0} \times 100$$

TE₀ = C'FDA로 label된 YAC-1 Cell과 effector cell (1:4)을 混合하여 培養直前(0時間)의 C'FDA로 label된 YAC-1 cell의 수

TE₃ = C'FDA로 label된 YAC-1 Cell과 effector cell(1:4)을 混合하여 培養 3 시간 후의 C'FDA로 label된 YAC-

1 cell의 수

5) 抗體依存性 細胞毒性反應(ADCC)의 分析⁸³⁻⁸⁶⁾

(1) 免 疫(Immunization)

4~5週된 BALB/C 생쥐의 胸部를 切開한 후 胸腺(thymus)을 摘出하여 胸腺組織을 slide glass로 으개어서 單細胞浮游液을 만든 후 Ficoll-Paque를 이용하여 400 g로 10 분간 遠心分離하여 얻었다. Thymocyte를 얻었다. Thymocyte를 PBS(pH 7.2)로 2~3 회 洗滌하여 1×10^8 cells/ml의 濃度로 1 ml를 成體 rabbit ear vein에 流入하여 7~8 일간 1차免疫시키고 다시 1次 免疫시킨 rabbit에 1次 免疫시킨 方法과 同一하게 3~4 일동안 免疫시켰다.

(2) 血清準備(Serum Preparation)

BALB/C 생쥐의 thymocyte로 1, 2 차 免疫시킨 rabbit ear vein에서 10 ml의 whole blood를 얻어 4 °C 暗冷狀態에서 30 분이상 凝固시킨 後에 2,500 rpm으로 30 분간 遠心分離하여 serum을 얻었다. Serum成分中 complement를 除去하기 爲하여 56 °C에서 30 분간 加熱한 다음 ADCC assay에 바로 使用하거나 -70 °C에서 保管하였다가 使用하였다.

(3) 標的細胞(Target Cell)準備 및 Antibody coat

3~4週된 BALB/C 생쥐의 胸腺組織을 얻은 다음 Ficoll-Paque를 使用하여 thymocyte를 分離하여 PBS(pH 7.2)로 3 회 洗滌한 다음 1×10^7 cells/ml 濃度로 適定한 後에 생쥐의 thymocyte로 免疫시킨 後 얻은 serum 10%를 添加하여 事前에 抗體로 coat하였고, ADCC의 對照群으로서는 생쥐의 thymocyte로 免疫시키지 않은 rabbit의 serum 10%를 添加하여 準備하였다.

(4) 標的細胞의 螢光標識

標的細胞의 라벨은 C'FDA working solution(150 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 7.5 μl 를 1 ml의 HBSS에 浮遊시킨 thymocyte ($2 \times 10^5 \text{ cells}/\text{ml}$)에 添加하여 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30 분간 培養하였다. 培養後 2 ml의 PBS로 3 회 洗滌한 다음 ADCC assay에 使用하였다.

(5) 效果細胞(Effector Cell)의 Preparation

成體 BALB/C 생쥐의 腹腔을 切開하여 脾臟을 摘出した 다음 slide glass로 으깨어서 單細胞浮遊液을 만든 다음 50 g로 30 초간 遠心分離하여 total leucocyte를 얻어서 $1 \times 10^7 \text{ cells}/\text{ml}$ 로 適定하였다.

(6) 標的細胞(Target Cell)와 效果細胞(Effector Cell)의 混合培養

標的細胞와 效果細胞는 1:1의 比率로 混合한 후에 CO_2 incubator (5% CO_2 , 95% Air, 37 $^{\circ}\text{C}$)에서 3 시간 培養한 후 PBS로 2~3 회 洗滌하여 ADCC assay에 使用하였다.

(7) FCM을 이용한 ADCC Assay

效果細胞에 의해 致死되는 標的細胞는 488 nm세기로 發光된 argon-ion laser beam 20 mW 出力에서 分析되었으며, 綠色螢光物質(fluorescein isothiocyanate)은 530 nm의 band pass filter에서 選擇의으로 透過 感知되었다. 感知된 情報는 BDIS의 Consort 30 computer program에 의하여 百分率로 計算하였다. Target control tube에서 fluorescent thymocyte의 수는 培養時間을 通하여 相對的으로 一定하였다. 標的細胞와 效果細胞를 같이 培養하였을 때의 fluorescent thymocyte cell의 數는 target cell-lysis 때문에 그 數가 顯著히 減少되었다.

ADCC assay는 다음 公式에 의하여 計

算되었다.

$$\text{ADCC에 의한 Specify killing(\%)} = \frac{\text{TE}_0 - \text{TE}_3}{\text{TE}_0} \times 100$$

TE_0 = C'FDA로 label된 target cell과 effector cell(1:1)을 混合하여 培養直前(0時間)의 C'FDA로 label된 target cell의 數

TE_3 = C'FDA로 label된 target cell과 effector cell(1:1)을 混合하여 培養 3時間 後의 C'FDA로 label된 target cell의 數

6) 緬羊赤血球에 對한 抗凝集素價 및 溶血素價 測定

1. 抗 原⁷⁴⁻⁷⁶⁾

胸腺依存性 抗原으로 使用한 緬羊赤血球(Sheep Red Blood Cell; SRBC)는 全北大學校 獸醫科大學에서 飼育하고 있는 緬羊의 頸靜脈으로 부터 採血한 後 同量의 Alsever씨액(pH 6.1)을 加하여 4 $^{\circ}\text{C}$ 에서 保管하면서 4 주 이내에 使用하였으며 保管中인 緬羊赤血球를 使用할 때는 使用直前に 滅菌한 PBS(pH 7.2)로 2~3 회 洗滌하여 $1 \times 10^8 \text{ cell}$ 의 濃度를 適正한 후 使用하였다.

2. 抗凝集素價 및 溶血素價測定^{61, 8-90)}

藥物 投與 7일째 모든 實驗菌의 생쥐에 $1 \times 10^8 \text{ cell}$ 의 SRBC를 腹腔內로 注射하여 免疫하고, 免疫後 7日에 眼球後靜脈으로부터 Pasteur pipette을 利用하여 採血한 다음 抗凝集素價 및 溶血素價를 測定하였다.

抗凝集素價의 測定은 實驗群으로 부터 얻은 血清을 56 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30分 동안 加熱하여 補體作用을 除去한 後에 Microtitration Trays (Lymbro chemical co.)에 滅菌한 PBS를 25

μl씩 連續 稀釋한 後 여기에 1×10^8 cell의 SRBC를 50 μl씩 各各 분주하여 37 °C에서 24 時間 동안 培養한 後 凝集이 發生한 最少濃度の 값으로 決定하였다.

溶血素價의 測定은 實驗群의 血清을 56 °C에서 30 分間 加熱하여 補體作用을 除去한 後에 Microtitration Tray에 5 % Rabbit complement(PBS 19 : 1RC)를 25 μl씩 分注한 다음 여기에 1×10^8 cell의 SRBC를 各各 分注하여 37 °C에서 1 時間 동안 培養한 後 溶血이 發生한 最少濃度の 값으로 決定하였다.

7) 接觸性 過敏反應의 測定⁷⁷⁻⁸²⁾

接觸性 過敏反應(Contact Hypersensitivity : CH)의 誘發을 爲하여 DNFB(Sigma)를 抗原으로 使用하였다. Aceton과 Olive oil을 4 : 1의 比率(V/V)로 溶解한 後 0.5 % DNFB 용액 20 μl을 藥物 投與 8 日된 實驗群 생쥐의 腹部皮膚에 減作하고 減作後 4 일에 0.2 % DNFB 溶液 5 μl을 耳輪內面에 各各 塗抹하여 惹起시켰다. 腫瘍增加率은 Mitutoyo engineer's micrometer를 利用하여 惹起직전과 惹起後 24 時間 뒤에 各各 測定하여 10⁻⁴ inch로 나타냈으며, 抑制(Depression)의 百分率은 다음 公式에 依하여 計算하였다.

$$\text{Depression Ratio}(\%) = \frac{\text{Positive con.} - \text{Experimental con.}}{\text{Positive con.} - \text{Negative con.}} \times 100$$

III. 實驗成績

1. 貪食細胞의 反應酸素中間物質(R.O.I. : Reactive Oxygen Intermediate) 生成能의 測定 秘方奪名散의 投與가 BALB/C 생쥐의 多形核白血球에 미치는 影響을 살펴보기 爲하여 14 日間 藥物이 投與된

實驗群 생쥐에 4.5 % Brewer's modified thioglycolate medium 3 ml/day를 腹腔 皮下에 注射하여 多形核白血球를 誘導한 後 1 일째 多型液 白血球를 分離하여 CL로 그 活性度를 測定하였다.(Fig. 1)

Fig. 1 에서는 Lucigenin에 依해 誘導된 多形核白血球의 活性度를 $\text{CPM} \times 10^6$ 으로 計算하였던 바 對照群은 1.635×10^7 이고, BB_1 은 1.374×10^7 , BB_2 는 1.094×10^7 , BB_3 는 0.771×10^6 으로 對照群에 比하여 抑制되었다.(Fig. 1)

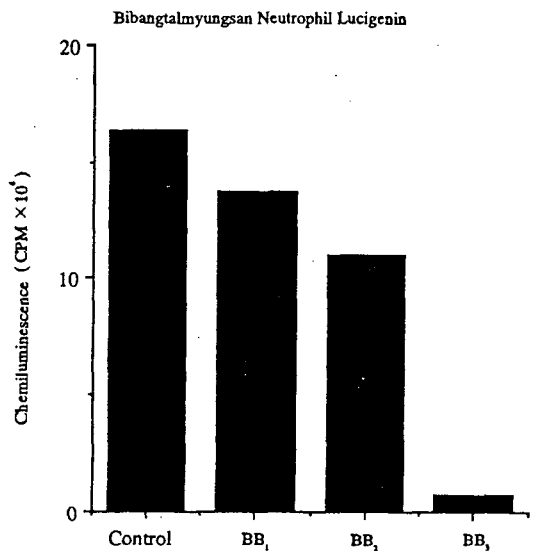


Fig. 1. Effect of BB_1 , BB_2 and BB_3 administration on the superoxide formation. Animals were given orally for 14 days. Murine peritoneal neutrophil was induced by thioglycolate injection (3 ml/Mouse) during 1 day. Chemiluminogenic probe used 10 mM of lucigenin (10, 10'-dimethyl-9, 9'-biacridium ; DBN^{2+}), detecting superoxide radicals. Murine peritoneal

neutrophil (5×10^6 cells/ml) was stimulated with $5.3 \mu\text{m}$ of phorbol myristate acetate (PMA), and measurement of lucigenin chemiluminescence carried out in the luminometer for 60 min at 37°C incubation. Significant inhibition was shown in mice treated with BB_1 , BB_2 and BB_3 .

BB_1 : Animals were given orally Bibangta-myung-san 150 mg/mouse during 14 days.

BB_2 : Animals were given orally Bibangta-myung-san 300 mg/mouse during 14 days.

BB_3 : Animals were given orally Bibangta-myung-san 450 mg/mouse during 14 days.

秘方奪名散의 投與가 BALB/C 생쥐의 大食細胞에 미치는 影響을 살펴보기 爲 하여 14日間 藥物이 投與한 實驗群 생쥐에 4.5% Brewer's modified thioglycolate medium 3 ml를 腹腔皮下에 注射하여 大食細胞를 誘導한 後 3日째 大食細胞를 分離하여 CL로 그 活性度를 測定하였던 바, 對照群은 1.022×10^8 인데 比하여 BB_1 은 1.014×10^8 으로 差異가 없지만 BB_2 는 8.119×10^7 , BB_3 는 4.626×10^7 으로 抑制되는 傾向을 나타냈다. (Fig. 2)

Luminol에 依해 誘導된 大食細胞의 活性度를 $\text{CPM} \times 10^6$ 으로 計算하였던 바, 對照群은 1.897×10^7 인데 比하여 BB_1 은 1.402×10^7 , BB_2 는 1.55×10^7 , BB_3 는 1.941×10^6 으로 對照群에 比하여 抑制하는 傾向을 나타냈다. (Fig. 3)

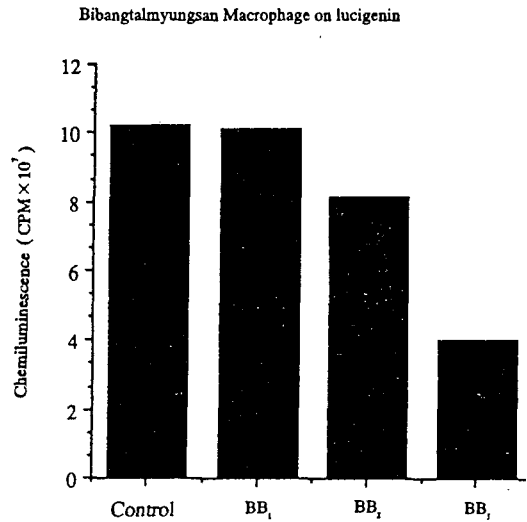


Fig. 2. Effect of BB_1 , BB_2 and BB_3 administration on the superoxide formation. Animals were given orally for 14 days. The component of administered drugs are same of Fig. 1. Murine peritoneal macrophage was induced by thioglycolate injection (3 ml/mouse) during 3 days. Chemiluminescent probe used 10 mM of lucigenin (10, 10'-dimethyl-9, 9'-biacridium; DBN^{2+}), detecting superoxide radicals. Murine peritoneal macrophage (5×10^6 cells/ml) was stimulated with $5.3 \mu\text{m}$ of phorbol myristate acetate (PMA), and measurement of lucigenin at 37°C incubation. Significant inhibition was shown in mice treated with BB_2 and BB_3 .

2. 自然致死細胞(Natural Killer Cell : NK Cell)의 活性度에 對한 影響

BALB/C 생쥐에 있어서 秘方奪名散의 投與가 NK Cell의 活性度에 미치는 影響을

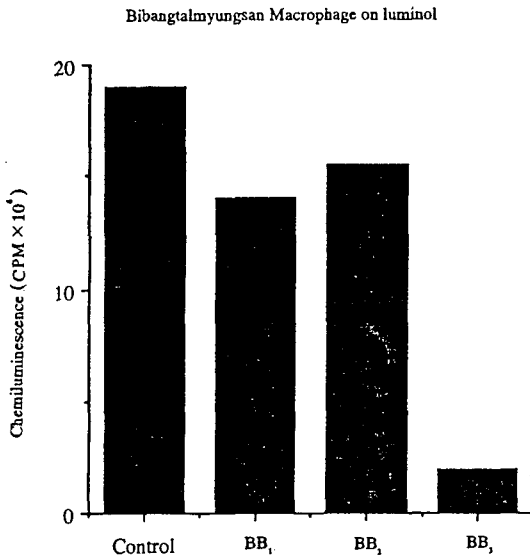


Fig. 3. Effect of BB₁, BB₂ and BB₃ administration on the hydrogen peroxide formation. Animals were given orally for 14 days. The component of administered drugs are same of Fig. 1. Murine peritoneal macrophage was induced by thioglycolate injection (3 ml/mouse) during 3 days. Chemiluminogenic probe used 10 mM of luminol (5-amino-2, 3-dihydro 1, 4-phthalazinedione), detecting hydrogen peroxide radicals. Murine peritoneal macrophage (5 × 10⁶ cells/ml) was stimulated with 5.3 μm of phorbol myristate acetate (PMA), and measurement of luminol chemiluminescence carried out in the luminometer for 60 min at 37 °C incubation. Significant inhibition was shown in mice treated with BB₁, BB₂ and BB₃.

알아보기 爲하여 YAC-1 target cell을 對象으로 實驗한 結果 對照群은 29.7 ± 4.7 % 인데 比하여 BB₂는 83.1 ± 3.7 % 로 (p < 0.005) 有意性 있게 增加하였고, BB₃는 42.2 ± 7.8 % 로 增加하는 傾向을 보였으나 BB₁은 25.9 ± 1.35 % 로 오히려 抑制시켰다. (Fig. 4)

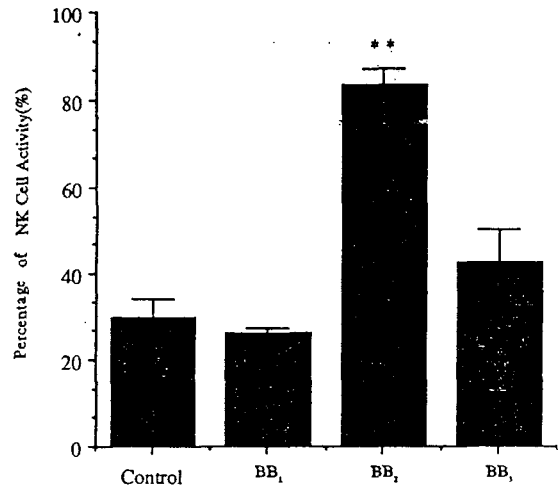


Fig. 4. Effect of BB₁, BB₂ and BB₃ administration on the NK Cell activity in mice. When effector cell are incubated with C¹⁴FDA-labelled YAC-1 target cells at the ratio of 4 : 1 for 0 h, 3 h, a considerable increment can be seen in the number of NK Cell activity was shown in mice treated with BB₂ and BB₃ groups on day 14. The components of administered drugs are same Fig. 1. Percent NK cell activity was calculated according to the following formula :

$$\text{Nk Cell Activity}(\%) = \frac{\text{TE}_0 - \text{TE}_{3h}}{\text{TE}_0} \times 100$$

3. 抗體依存性 細胞毒性 反應(ADCC)에 對한 影響

BALB/C 생쥐에 있어서 秘方奪名散의 投與가 ADCC에 미치는 影響을 알아보기 爲하여 thymocyte target cell을 對象으로 實驗한 結果, 對照群은 $50.1 \pm 2.2\%$ 인데 比하여, BB₃는 $70.1 \pm 1.5\%$ ($p < 0.005$)이었고, BB₂는 $64.3 \pm 3.1\%$ ($p < 0.05$)로 유의성 있게 增加하였으나, BB₁은 $60.1 \pm 1.2\%$ 로 增加하는 傾向을 보였다. (Fig. 5)

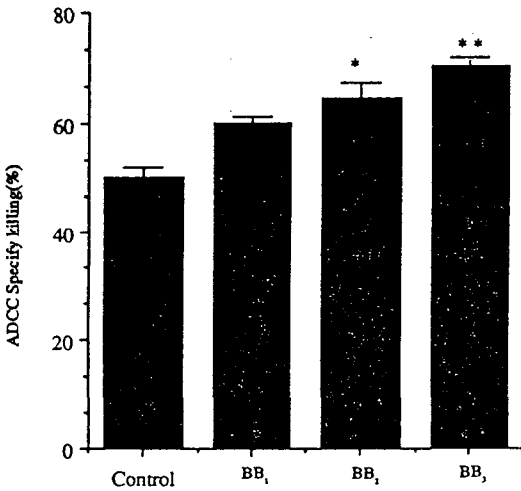


Fig. 5. Effect of BB₁, BB₂ and BB₃ administration on the ADCC response in mice. When effector cells are incubated with C¹⁴FDA-labelled immunized thymocyte target cells at the ratio of 1 : 1 for 0 h, and 3 h. Significant increment of ADCC response was shown in mice treated BB₂, BB₃ groups on day 14. The components of administered drugs are same as Fig. 1. Percent ADCC response was calculated according to the following formula :

$$\text{ADCC Specify killing}(\%) = \frac{TE_0 - TE_3}{TE_0} \times 100$$

4. 赤血球凝集素價 및 溶血素價에 미치는 影響

BALB/C 생쥐에 있어서 秘方奪名散의 投與가 緬羊赤血球에 對한 抗體生成能에 미치는 影響을 알아보기 爲하여 緬羊赤血球에 對한 凝集素價와 溶血素價를 測定하여 log₂ 값으로 計算하였다. 凝集素價는 對照群이 8.2 ± 0.8 인데 比하여, BB₁은 7.3 ± 0.35 , BB₂는 $7. \pm 0.4$, BB₃는 7.6 ± 0.12 로 對照群에 比하여 약간 抑制하였으나 거의 差異가 없었다. (Fig. 6)

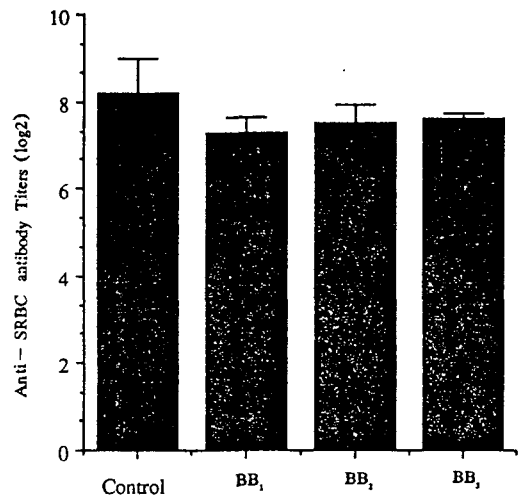


Fig. 6. Effect of BB₁, BB₂ and BB₃ on the hemagglutinin titers. Animals are sensitized with SRBC on day 0 and hemagglutinin titers are measured on day 8. Animals were given orally BB₁, BB₂, BB₃ (0.2 ml/mouse) from 7 days before sensitization. The component of administered drugs are same of Fig. 1. Data represent the mean of antibody titers ± S.E.

溶血素價는 對照群이 8.6 ± 0.3 인데 比하여 BB_1 은 7.5 ± 0.21 , BB_2 는 7.2 ± 0.14 , BB_3 는 7.6 ± 0.12 로 對照群에 比하여 抑制되었으나 거의 差異가 없었다.(Fig. 7)

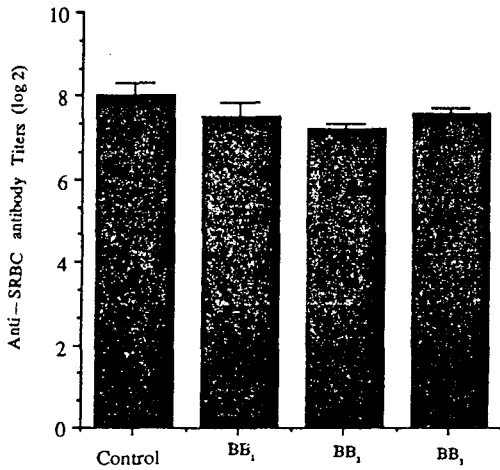


Fig. 7. Effect of BB_1 , BB_2 and BB_3 administration on the antibody formation against SRBC. Animals were sensitized with SRBC on day 0 and measured hemolysin(HL) titers on day 8. Animals were given orally BB_1 , BB_2 and BB_3 from 7 days before sensitization and maintained for 7 days after sensitization. Data represent the mean of antibody titers \pm S.E.

5. 接觸性 過敏反應에 미치는 影響

BALB/C 생쥐에 있어서 秘方奪名散의 投與가 DNFB 感作에 依한 接觸性 過敏反應에 미치는 影響을 알아보기 위하여 檢液을 생쥐 한마리당 0.2 ml씩 14 일간 經口投與한 結果, DNFB 感作에 의한 接觸性 過敏反應의 抑制率은 對照群에 比하여 BB_1 은 21.6 ± 4.5 % ($p < 0.05$)로 有意性 있게 抑制시켰고, BB_2

가 15.3 ± 4.3 %, BB_3 는 10.8 ± 5.5 %로 抑制시키는 傾向을 보였다.(Fig. 8)

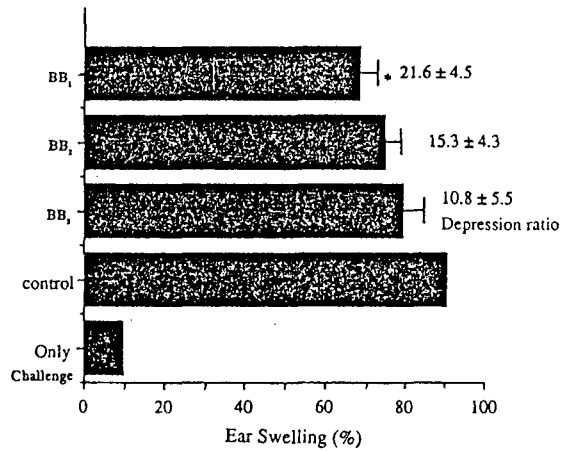


Fig. 8. Effect of BB_1 , BB_2 and BB_3 administration (0.2 ml/mouse) on contact hypersensitivity response in mice. Normal BALB/C mice were contact sensitized with $20 \mu\ell$ of 0.5 % DNFB in a vehicle of 4 : 1 = acetone : olive oil on day 0. All mice were ear challenged on days 5 and ear swelling was measured 24 hour later. Significant inhibition of the contact hypersensitivity response was achieved in mice treated with BB_1 , BB_2 , BB_3 on days 5. Data represent ratio of ear swelling \pm S.E. * $P < 0.05$ compared with control.

한편 本 實驗을 遂行하는데 있어서 秘方奪名散에 含有된 甘草가 接觸性 過敏反應에 미치는 影響을 알아보기 위하여 甘草煎湯液을 7日間 BALB/C 생쥐에게 投與한 結果, 接觸性 過敏反應의 抑制率은 檢液投與群이 感作 및 惹起시킨 對照群에 比하여 RG_2 는 73.8 ± 2.4 ($P < 0.005$)로 有意性 있게 抑制시켰고, RG_1 은 31.5 ± 5.7 % ($P < 0.05$)로 抑制시켰다.(Fig. 9)

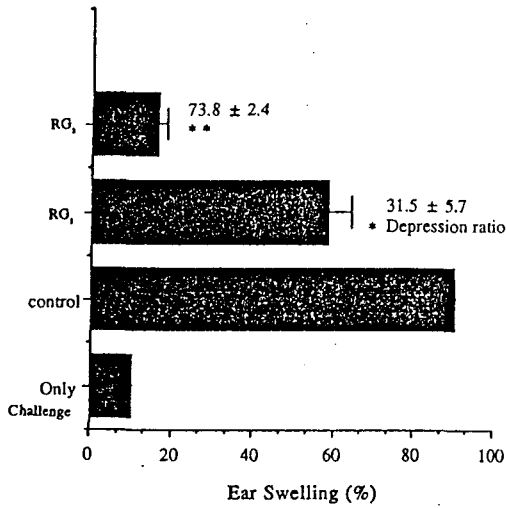


Fig. 9. Effect of RADIX GLYCYRRHIZAE (甘草) on contact hypersensitivity response in mice. Five mice were sensitized with 20 μ l of 0.5 % DNFB on day 0 and day 1. All mice were challenged on day 5 and ear swelling was measured 24 hours later. Significant inhibition of the contact hypersensitivity response was achieved only in mice treated with RG₁ and RG₂. Data represent the mean depression ratio ear swelling \pm S.E.

**P<0.005, *P<0.05 compared with control

RG₁: RADIX GLYCYRRHIZAE(甘草) was given orally 17.5 mg/0.2 ml

RG₂: RADIX GLYCYRRHIZAE(甘草) was given orally 33.5 mg/0.2 ml

IV. 考 察

靈樞 癰疽篇¹¹⁾에 “寒邪客于經絡之中則血泣 血泣則不通 不通則衛氣歸之 不得復反故癰腫寒氣化爲熱 熱勝則腐肉 肉腐則爲膿” 이라 하고 이를 朱¹⁰⁾는 營衛란 血液과 白

血球로 指稱할 수 있고 熱이란 말한 것은 곧 發熱이라 할 수 있으며 그 原因이 冷과 熱, 그리고 化學的 刺戟 및 細菌에 依해서 炎症이 發生한다 하였고 馬²²⁾는 이에 對해 初期의 寒이 熱로 化하고 熱이 勝하면 肉이 씩으며 漸次로 筋骨과 臟腑까지 傷하는데 이 까닭은 血泣不通하면 衛氣가 內로 가서 다시 外로 돌아오지 못하기 때문이라 註하고 있는데 이는 免疫學에서의 炎症反應 및 貪食作用과 類히하다고 볼 수 있겠다.

癰疽의 治法을 살펴보면 李挺等^{18,27)}은 外因으로 寒熱이 있을 때는 表散하고 內因으로 熱痛이 있을 때는 疎行하고 病邪가 經絡內에 있을 때는 營衛를 調和하고 潰瘍後에는 托理 排膿生肌하며 外治로는 灸 敷藥 洗滌 貼膏等을 利用한다 하였고 中醫外科學等^{18,20,21,27,30,32)}에는 治療法에 對한 大綱을 設定하여 初期는 消散 中期는 內托 後期는 補養法의 治療를 한다 하였다.

內托이란 元氣를 돕는다는 意味로서, 腫瘡가 形成되어도 突起하지 않고 潰瘍이나 化膿도 잘 되지 않는다는든지, 或은 疼痛이 없고 膿이 적으면서 滲出物이 흘러 瘡口가 收斂되지 않을 때 쓰는 治法이다.⁸⁾

本 實驗에 使用된 秘方奪名散은 內托之劑로서 그 構成藥物의 藥效를 살펴보면, 天花粉은 補氣安神하고 排膿 散腫 消痰 解熱 消腫毒하고 祛瘀血等의 作用이 있으며 穿甲山은 消癰腫 排膿血 通竅 殺蟲 排毒하고, 赤芍藥은 通血脈 瀉肝火하며 消癰腫 散瘀血 止痛等에 利用되고 鎮痙鎮痛의 效가 있다. 甘草는 和中解毒의 藥物로서 諸瘡腫毒을 消滅하고 瀉火止通 祛痰 補脾等에 應用되고 防風은 發表疏散 祛風勝濕하며, 瘍瘡 金瘡 身痛에 應用하며 退熱作用이 있고 白芷는 排膿止痛, 生肌 및 鎮痛作用이 있다. 皂角刺는 開竅通關하고, 搜風逐痰하며 癰疽腫毒

에 效가 있고 祛痰利尿作用이 있으며 金銀花는 清熱解毒하며 腫毒 癰疽等に 應用되고 抗菌作用이 있으며 陳皮는 宣通疎利하고, 祛濕下痰하며 清熱消積, 行水, 行氣, 健胃하고 當歸는 補血清血 祛瘀生新하며 消癰疽 排膿止痛 鎮靜 利尿作用이 있고 貝母는 散結祛痰 清熱 潤肺하는 藥物로서 瘡瘍 乳癰 金瘡等を 治療하며, 乳香은 消癰疽諸毒과 伸筋 止痛의 效가 있다.^{4-6, 19, 29, 33, 35, 37, 43, 44, 48)}

秘方奪命散을 煎湯할 때는 好酒를 加하여 하는데 이는 술의 힘을 빌어 藥이 온 몸에 宣通하게 하여 病邪를 빨리 疏散시키고자 한 것으로 思料된다.³⁴⁾

秘方奪命散의 構成藥物中 甘草에 對한 免疫學的 報告로는 態谷⁴⁶⁾이 甘草의 免疫調節 效果에 對한 것과 八倉⁵⁰⁾이 甘草의 免疫抑制作用에 對한 것이 있고 江田^{46, 47)} 등은 甘草의 PCA(passive cutaneous anaphylaxis)에 對한 抑制效果에 對하여 報告하였다. 當歸에 對한 免疫學的 研究로는 梅²³⁾ 白²⁵⁾ 張³⁹⁾이 當歸가 大食細胞와 單核細胞의 貪食作用을 活性化 시킨다고 하였으며 Yamada⁵¹⁾는 當歸中의 AR-AG(AR-arabinogalactin)가 抗補體作用(anti complementary activity)을 한다고 하였고, kumazawa⁵²⁾는 當歸中의 AIP(angelic immunostimulating polysaccharide)가 IgM과 IgG抗體反應을 顯著히 增加시킨다고 하였으며, 吳¹⁷⁾는 當歸의 細胞性 및 體液性 免疫效果를 報告한 바 있다. 穿山甲에 對한 免疫學的 研究로는 沈¹⁵⁾의 穿山甲의 抗癌效果에 關한 것이 있다.

身體의 一部組織에 外部 或은 內部的 原因에 依하여 惹起되는 組織反應인 炎症反應은 그 原因이나 身體의 部位에 따라 個體에 利로울 수도 있고 害로울 수도 있는 것이다.

즉, 外部에서 侵入한 病原性 細菌에 의한 炎症反應일 境遇엔 細菌이 身體內 다른 곳으로의 移動을 防止할 目的으로 炎症反應이 惹起된 것이므로 利롭지만 全身性 紅斑性 浪瘡症의 경우와 같이 自我的인 要素를 免疫系가 非自我로 認識하여 炎症을 惹起시킬 때에는 組織을 損傷시킬 뿐이므로 個體에 害롭기만 하다.^{53, 63)} 또한 炎症反應이 四肢의 結締組織에서 일어나면 全身的인 큰 被害는 없겠지만 大腦와 關節에서 일어나면 一部の 運動器 或은 知覺障礙가 招來되거나, 關節의 形態에 異狀이 생겨 四肢의 運動에 지장이 招來될 것이다. 그러므로 炎症反應은 個體의 基本的인 防禦機轉을 擔當하여 生物學的 生存을 可能하게 하는데에 없어서는 안 될 生體反應임에 틀림이 없으나 炎症反應에 따르는 組織損傷을 考慮한다면 알레르기를 誘發하는 花粉같은 外部物質이나 自我的 組織에 依하여 惹起된 것이나 炎症反應의 身體位置에 따라서 個體에 큰 被害를 招來할 수도 있다. 또한 炎症反應이 四肢의 結締組織에 招來되었어도 長時間 持續된다면 個體는 被害를 당하게 된다.

炎症反應을 일으키는 細胞는 血液이나 組織에 存在하는 貪食細胞들이다.⁵⁴⁾ 即 血液의 好中球가 炎症部位에서 가장 많이 發見되고 그 다음으로 好酸球가 약간 存在하고 免疫反應에 依한 炎症反應일 境遇엔 貪食細胞들을 誘引한 淋巴球가 드물게 보인다.

炎症部位에 侵入한 貪食細胞가 細菌을 死滅시키고 炎症部位의 組織을 損傷시키는 機轉은 貪食細胞가 異物質로 認識한 物質들을 貪食하면서 發生된 反應酸素中間物質(R.O.I)들인 O_3 , H_2O_2 등에 依한다고 밝혀졌다. 그러므로 ROI는 貪食細胞內에서 生

成되어 貪食細胞가 貪食한 微生物을 死滅시키는 作用을 하므로 個體 防禦機能中 마지막 段階를 장식하는 生存에 必須不可缺한 物質이지만 炎症部位의 浸潤된 貪食細胞에서 遊離되는 ROI는 周圍組織의 損傷을 甚하게 하여 個體에 매우 害롭게도 作用한다.⁶³⁾

著者は 秘方奪命散의 效能을 免疫學의 炎症作用과 연관시켜 貪食細胞인 好中球 및 大食細胞의 ROI形成에 미치는 影響에 對하여 觀察하였던 바 秘方奪命散 投與된 實驗動物의 腹腔에서 分離한 好中球나 大食細胞의 ROI는 正常 對照群에 比하여 減少되었다. 이는 秘方奪命散의 投與가 貪食細胞의 ROI에 影響을 주어 抗炎作用을 나타낸다는 것을 示唆해 주고 있다. (Fig. 1~3 參照)

個體의 統合的인 調節을 받지 아니하고 急速히 成長하는 腫瘍細胞를 死滅시키는 NK細胞는 細胞性 免疫反應中 初期 抗癌 免疫反應에 重要な 役割을 擔當한다. 이에 著者は 抗癌作用을 擔當하는 自然致死細胞 (Natural killer cell; Nkcell)의 活性 및 抗體依存性 細胞毒性反應 (Antibody-dependent cellular cytotoxicity)을 나타내는 致死細胞 (killer cell; kcell)의 活性에 미치는 影響을 觀察하였는 바 秘方奪命散이 抗癌作用을 擔當하는 NK細胞나 K細胞의 活性을 抑制하기 보다는 오히려 增加시키는 傾向이 있었다.^{55,56)} 이는, 秘方奪命散이 細胞性 免疫反應中 個體의 内部에서 突然히 나타나는 腫瘍에 對한 抗腫瘍 免疫反應에도 效果의 임을 示唆해 주고 있는 것이다.

秘方奪命散이 貪食細胞에 依하여 遂行되는 先天的 防禦機轉인 炎症反應을 抑制시키고 先天的 防禦機轉과 後天的 防禦機轉의 中間位置에 屬하는 NK 및 K細胞의 活性은

오히려 增加시키기 때문에 後天的 防禦機轉인 免疫反應에 미치는 影響에 대해서도 또한 觀察하였다.

免疫反應은 淋巴球에 依하여 遂行되며 淋巴球는 形態學적으로 區別할 수 없는 여러 細胞集團으로 構成되어 있다. 그 中 가장 뚜렷이 區別되는 것은 發生學的 및 機能적으로 判이한 T細胞와 B細胞인 바 前者는 細胞性 免疫反應과 免疫調節機能을 擔當하고 後者は 抗體를 形成하는 體液性 免疫反應을 擔當한다.⁵⁷⁻⁶¹⁾ 秘方奪命散이 投與된 實驗動物은 緬羊赤血球 (Sheep red blood cell: SRBC)에 對한 凝集素 및 溶血素의 形成에는 影響을 미치지 아니하였으며 (Fig. 6~7 參照) 強力한 接觸性 過敏反應 (contact hypersensitivity: CH)을 惹起시키는 dinitrofluobenzene (DNFB)에 對한 接觸性 過敏反應은 若干 抑制시켰다. 또한 著者は 甘草의 主成分인 glycyrrhizin의 投與가 免疫反應中 細胞性 免疫反應만을 特異적으로 抑制한다고 報告한 鄭⁶²⁾ 및 朴¹²⁾ 등의 實驗結果에 着眼하여 秘方奪命散에 包含된 甘草만을 煎湯하여 實驗動物에 投與한 結果, 接觸性 過敏反應에 대해 有意性 있게 抑制하는 것을 觀察하였다.

本 實驗에서 秘方奪命散은 個體의 防禦機轉중 貪食細胞에 依하여 惹起되는 炎症反應의 ROI形成을 抑制하여 減少시키고, NK細胞 및 K細胞에 依한 抗癌作用이나 淋巴球에 依하여 遂行되는 細胞性 및 體液性 免疫反應에는 큰 抑制作用이 없이 抗炎作用을 나타냄을 示唆해 주고 있다.

以上으로 秘方奪命散의 免疫反應에 對해 實驗하였는데 앞으로 免疫疾患에 對한 韓方治療의 免疫學的 研究가 必要할 것으로 思料된다.

V. 結 論

秘方奪命散이 생쥐의 抗炎, 抗癌 및 免疫反應등에 미치는 影響을 究明하기 위하여 好中球나 大食細胞의 反應酸素中間物質 (reactive oxygen intermediate : ROI)과 自然致死細胞(natural killer cell : NK cell) 活性도와 抗體依存性 細胞毒性反應(antibody-dependent cellular cytotoxicity : ADCC) 및 抗體生成과 接觸性 過敏反應등을 各各 測定하였던 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

- 1) 秘方奪命散은 好中球의 H₂O₂ 形成을 藥量에 比例하여 效果的으로 抑制시켰다.
- 2) 大食細胞의 O₂나 H₂O₂ 形成은 秘方奪命散에 依하여 抑制되는 傾向을 보였다.
- 3) NK細胞의 活性은 秘方奪命散에 依하여 增加되었다.
- 4) 秘方奪命散은 ADCC를 藥量에 比例하여 增加시켰다.
- 5) 抗體生成能은 秘方奪命散에 依하여 影響을 받지 않았다.
- 6) 秘方奪命散은 接觸性 過敏反應을 若干 抑制시켰고, 處方中的 甘草는 有意性 있는 抑制效果가 있었다.

따라서 臨床에서 秘方奪命散은 炎症反應의 結果로 因해 組織破壞가 甚해서 惹起된 疾患의 治療에 抗腫瘍 免疫能이나 特異 免疫反應의 損傷에 副作用이 없이 有效할 것으로 推定된다.

參 考 文 獻

1) 김길현 : 新物質創出을 爲한 生物活性

研究法, 韓國生化學會, p. 393, 1990.

2) 金賢濟 : 東洋醫學概論, 서울, 東洋醫學研究所, p. 125, 191, 1977.

3) 文濬典外 : 東醫病理學(I), 서울, 韓醫科大學 病理學教室, pp. 94~106, 1985.

4) 申佶求 : 申氏本草學, 서울, 壽文社, p. 16, 80, 268, 521, 537, 542, 675, 725, 729, 1982.

5) 辛民教 : 原色臨床本草學, 서울, 南山堂, p. 175, 221, 283, 300, 321, 380, 453, 472, 473, 506, 522, 636, 1986.

6) 李常仁外 : 漢藥臨床應用, 서울, 成輔社, p. 50, 54, 140, 252, 317, 325, 339, 361, 399, 497~499, 502, 1982.

7) 鄭遇悅 : 漢方病理學, 裡里, 圓光大學校 韓醫科大學病理學教室, pp. 94~106, 1985.

8) 蔡炳允 : 漢方外科, 서울, 高文社, p. 53, 1973.

9) 許 浚 : 東醫寶鑑, 서울, 高文社, p. 538, 1980.

10) 洪元植 : 精校皇帝內經素問, 서울, 東洋醫學研究院出版部, p. 124, 285, 1985.

11) 洪元植 : 精校皇帝內經靈樞, 서울, 東洋醫學研究院出版部, p. 347, 1981.

12) 朴恩貞 : 歸脾湯과 歸脾湯加味方이 마우스의 過敏反應 및 免疫細胞의 機能에 미치는 影響, 裡里, 圓光韓醫大論文輯, pp. 17~18, 1990.

13) 徐毅錫 : 仙防活命飲이 마우스의 로젤 形成 및 抗體生成에 미치는 影響, 圓光韓醫大論文輯, 1984.

14) 송호준 : 黃連解毒湯이 緬羊赤血球에 對한 免疫反應에 미치는 影響, 圓光韓醫大論文輯, 卷 5, 1982.

15) 沈載然 : 白鼠를 利用한 枳實, 魚腥草, 穿山甲 및 猪苓의 抗癌效果에 關한

- 研究, 서울, 慶熙大學校韓醫大論文, 1988.
- 16) 安大宗: 托理消毒飲이 緬羊赤血球에 對한 免疫反應에 미치는 影響, 圓光韓醫大論文集, 卷 3, 1980.
 - 17) 吳旻哲外: 黃芩 및 當歸의 免疫增強效果에 關한 研究, 서울, 慶熙韓醫大論文集, Vol. 9, pp. 343~354, 1986.
 - 18) 江蘇新醫學院編: 常見中醫臨床手冊, 中國, 衛生出版社, pp. 418~427, 1979.
 - 19) 丘晨波: 中藥新編, 香港, 太平書局出版, pp. 20~24, 42, 67~68, 85~88, 113, 115~116, 121~124, 137~138, 260, 291~296, 1968.
 - 20) 金知泳: 醫部全書, 서울, 金泳出版社, p. 57, 87, 1975.
 - 21) 南京中醫學院編: 簡明中醫外科學, 中國, 江蘇人民出版社, p. ~7, 1966.
 - 22) 馬元臺註: 皇帝內經, 서울, 成輔社, pp. 478~479, 1975.
 - 23) 梅其炳外: 中國當歸藥理研究進展, 中草藥, 14(8): 43~45, 1983.
 - 24) 北京中醫學院註編: 內經講義, 上海, 上海科學技術出版社, p. 5, 1964.
 - 25) 白潤江外: 當歸對小鼠巨噬細胞吞噬功能的 影響, 中草藥, 14(12): 19, 1983.
 - 26) 上海中醫學院: 中醫學基礎, 香港, 常務印書館, pp. 101, 1977.
 - 27) 蘇修德: 萬病治療大全, 台南, 新世紀出版社, pp. 51~52, 1978.
 - 28) 安徽中醫學院編: 中醫臨床手冊, 中國, 常務印書館, pp. 188~189, 359, 1975.
 - 29) 楊時泰: 中草述子元, 中國, 科技衛生出版社, pp. 83~84, 142~144, 157~159, 164, 169, 278~281, 344~345, 474~476.
 - 30) 楊醫俠: 臨床各科綜合治療學, 中國, 文光圖書公司, pp. 135~142, 1956.
 - 31) 嚴宗正: 正邪論新釋, 新中醫, 6: 5~6, 1984.
 - 32) 吳謙外: 醫宗金鑑, 臺北, 大中國圖書公司, pp. 19~33, 1957.
 - 33) 劉文泰等纂: 本草綱目精要, 中國, 常務印書局, p. 227, 268, 282, 299, 302, 307, 308, 377, 485, 521, 768, 1956.
 - 34) 王昆: 醫方集解, 臺北, 大光圖書公司, pp. 375~377, 1970.
 - 35) 王餘德: 古今中藥集成, 中國, 大泉書局, p. 41, 97, 104, 156, 161, 167, 169, 172, 177, 181, 219, 259, 359, 454, 1957.
 - 36) 李時珍: 本草綱目(下), 北京, 人民衛生出版社, p. 2384, 1982.
 - 37) 李仲梓: 醫宗必讀, 서울, 書苑堂, p. 33, 75, 79, 81~82, 85, 87, 89, 99, 122, 131, 161, 1975.
 - 38) 張馬合註: 皇帝內經, 서울, 裕昌德書店, 靈樞, p. 163, 347, 468, 1960.
 - 39) 張蘊芬: 當歸補血湯及其加味對正常小白鼠免疫功能的影响, 中醫雜誌 10: 73~74, 1982.
 - 40) 朱仁康: 實用外科中藥治療學, 中國, 文光圖書公司, pp. 1~3, 15~28, 1957.
 - 41) 朱震亨: 丹溪心法附餘(下), 서울, 大星文化社, p. 561, 1982.
 - 42) 中醫學院編: 中醫外科學講義, 中國, 衛生出版社, p. 1, 1966.
 - 43) 陳存仁: 中藥科學用法與驗方, 香港, 震旦圖書公司, pp. 10~35, 55, 58, 71, 102, 124, 130, 193, 227, 233, 319, 1967.
 - 44) 胡安邦: 藥性大辭典, 中國, 永經堂書局, pp. 5, 28~29, 86, 124~125, 176~177, 224, 244~247, 1953.
 - 45) 王維德: 外科證治全生集, 上海中醫學院編: 中醫外科學講義, 醫藥衛生出版社, p. 7, 1973.

- 46) 江田昭英 외 : 生藥의 抗アレルギー-作用에 についての 吟味, 日藥理誌, 66 : 366~378, 1970.
- 47) 江田昭英 외 : 和漢藥의 抗アレルギー-作用, 日藥理誌, 80 : 31~41, 1982.
- 48) 態谷郎 외 : 免疫反應에 及ぼす 甘草有效成分의 調節效果, 第 11 回 和漢藥シンポジウム, pp. 79~83, 1978.
- 49) 栗原愛塔 : 漢方藥述, 日本, 皇漢藥堂, p. 8, 10, 28, 40~41, 54, 68, 114~115, 126~127, 132~133, 141, 156, 1934.
- 50) 八倉陸保 외 : 甘草成分의 免疫抑制效果에 關する 研究 第 11 回 和漢藥シンポジウム, pp. 73~78, 1978.
- 51) Yamada Haruki, et al., studies on polysaccharides from *Angelica acutiloba*, planta., 50 : 163~167, 1984.
- 52) Kumazawa Yoshio et al : Lymphocyte activation by a polysaccharide fraction separated from hot water extracts of *Anglica acutiloba* kitagawa J. pharmaco-bio-Dyn, 8 : 417~424, 1985.
- 53) Jarrett, E. E., Mackenzie, S., and Ben-nich, H. Parasite-induced non-specific IgE. dose not protect against allergic reactions. Nature, 283, pp. 302~304, 1980.
- 54) Ivan Roitt, Immunology, Gower, Medical Publishing, London, pp. 210~214, 1989.
- 55) Kiersling, R., et al. killer cells : A functional comparision between natural, immune T cell and APCC invitro system J. Exp. Med., 143, pp. 772~780, 1976.
- 56) Oettgen. H. F. Immunotherapy of cancer. N. Engl. J. Med., 297, pp. 484~491, 1977.
- 57) Greaves, M. F., Owen, J. J. T., and Raff, M. C. T and B Lymphocytes : origins, properties, and Roles in Immune Response. Elsevier-North Holland, New York, 1975.
- 58) Jannosy, G., and Greaves, M. F. Lymphocyte activation. I. Response of T and B Lymphocytes to Phytomitogens. Clin. Exp Immunol., 9 : pp. 483~498, 1972.
- 59) Miller, R. G., and Phillips, R. A. Development of B Lymphocytes, Fed. Proc., 34, pp. 145~150, 1975.
- 60) Moller, G., ed. Subpopulations of Blymphocytes. Transplant. Rev., 24, p. 3~236, 1975.
- 61) Mosier, D. E., and Cohen, P. L. Ontogeny of mouse T lymphocyte function, Fed. Proc., 34, p. 137~144, 1975.
- 62) Chung, H. T. et al. : Glycyrrhizin suppresses the contact hypersensitivity by affecting the efferent phase of cell mediated immunity in mice. J. Korean Immunol., (in press), 1990.
- 63) Tizard, An Introduction Immunology, W. B. Sanders company, New York, pp. 441~444, 468~469, 1988.
- 64) Baehner RL Murrmann SK. Davis J. and Johnson RB : The role of superoxide anion and hydrogen Peroxide in phagocytosis associated oxidative metabolic reaction. J Clin invest 56 : p. 571, 1975.
- 65) Sagone Al Jr, Mendelson DS, and Met EN : The effect of sodium azide on the chemilumin escense of granulocytes.

- Evidence for the generation of multiple oxygen radicals. *J LAB CLIN MED* 89 : p. 1333, 1977.
- 66) Misra HP and Fridovich I : Superoxide dismutase and oxygen enhancement of radiation lethality/*Arch Biochem Biophys* 176 : 577, 1976.
- 67) J scholmerich, R Andreesen, Bioluminescence and chemiluminescence, Proceedings of the International Bioluminescence and Chemiluminescence Symposium, New York, pp. 3~12, 1986.
- 68) Buetner, M. and Bauer, J. : The effects of dietray T-2 toxin on the NK cell activity and on the reactivation of pseudorabies virus in NMRI mice *Zentralbl. Veterinaarmed. Peihe.*, 35 : 421~430, 1988.
- 69) Chars, J. Y. and Lillehoi, H. S. : Isolation and functional characterization of chicken intestinal intraepithelial lymphocyte showing natural killer cell activity against tumor target cells. *Immunol*, 63 : 111~117, 1989.
- 70) Muffi, S. I., Prahala, R., Moriguchi, Sipes, I. G. and Watson, R. R. : Functional and numerical alterations induced by ethanol in the cellular immune system *Immunopharmacol*, 15 : 85~94, 1988.
- 71) Schmid, D. S. : The human MHC-restricted cellular response to herpes simplex virus type 1 is mediated by CD₄ helper (+), CD₈ supressor(+) T cells and restricted the DR region of the MHC complex. *J. Immunol*, 140 : pp. 3601~3636, 1988.
- 72) Soerskaar, D., Foerre, Oe., Albrechtsen, D. and Slaven, P. : Natural cytotoxicity in adult acute leukemia. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 86 : pp. 190~195, 1988.
- 73) McGrinnes, K., chopman, G. Marks, R. and Penny, R. : A fluroescence NK assay using flow cytometry. *J. Immunol., Meth.*, 86 : pp. 7~15, 1986.
- 74) Biozzi, G., stiffel, C. Mounton, D., Bouthiller, Y. and Decrusefound, C. : Akinectic study of Antibody producing cells in the spleen of Mice Immunized Intravenously with sheep erythrocytes, *Immunology*, 14 : 7, 1968.
- 75) Miller, T. E. et al : Immunopotential with BCGII, Modulation of the response to sheep red blood cells, *J. Nat. Cancer Inst.*, 51 : p. 1669, 1973.
- 76) Mitsuoka A. et al : Delayed hypersensitivity in mice induced by intravenous sensitization with sheep erthrocytes : evidence for tuberculin thpe delayed hypersensitivity of the reaction, *Immunology*, 34, p. 363, 1978.
- 77) Kakayuk, H. and MIdsoo : Ferritin selectively supresses Delayed type hypersensitivity responses at induction or effector phase, *cell. immunol.* 109, 99.7~78, 1987.
- 78) Lynch D. H., Godish M. F., and Daynes R. A. : The effect of ultraviolet irradiation on the generation of antitumor cytotoxic effector cell responses in vitro, *J. immunol.*, 127 : 1163, 1987.
- 79) Mitsuoka, A. et al : Delayed hypersensitivity in mice induced by intravenous

- sensitization with sheep erythrocytes : evidence ofr tuberculin type delayed hypersensitivity of the reaction, *Immunology*, 34, 363, 1978.
- 80) Noonan, F. D., Defabo, E. C. and Kripke, M. L. : suppression of contact hypersensitivity by UV radiation and its relationship to UV induced suppression of tumor immunity, *Photobiol*, 34 : 683, 1981.
- 81) Toews, G. B., Bergstresser, P. R., and Streilein, J. : Epidermal Langerhans Cell density determines whether contact hypersensitivity or unresponsiveness follows skin painting with DNFB., *J. Immunol*, 124 : 445, 1980.
- 82) Chung, H. T., Samlowski, W. E., and Daynes, R. A. : Modification of the murine immune system by glucocorticosteroids of circulating lymphocytes. *Cell Immunol.*, 101 : 571~585, 1986.
- 83) Lvan Roitt, *Immunology*, New York, 1989, p. 96.
- 84) Ivan Roitt, *Immunology*, New York, 1989, p. 201.
- 85) Kohl, S & Loo, L. S., Protection of neonatal mice against herpes simplex virus infection, *Journal of immunology* 129, p. 313.
- 86) Clark, W. R., and Golstein, P., Mechanism of cell-mediated cytotoxicity, In *Advances in Experimental Medicine and Biology* vol. 146, New York, 1982.
- 87) Davis, A. J. S. et al : The failure of thymus-derived cells to produce antibody Transplantation, 5 : 222, 1967.
- 88) Nowotny, A. : Antigen-Antibody interactions in basic exercises in immunochemistry, Springer, Verlag Bertin Heidelberg, N. Y., pp. 217~271, 285~287, 1979.
- 89) Sells, S. : Immunology, immunopathology and immunity, Hagerstown, Maryland, Harper & Row pub., pp. 144~171, 1980.
- 90) Zaalberg, O.B. : A simple method of detection single antibody forming cells, *Nature*, 202 : 1231, 1964.
- 91) BELLANTI : IMMUNOLOGY3, W. B. Saunders Co., p. 346, 447, 471, 1985.