

還魂散煎湯液이 免疫調節反應에 미치는 實驗的 研究

宋孝元·康舜洙*·柳道坤**

ABSTRACT

Experimental Study of Hwanhonsan water extract on immunologic control function

Song, Hyo-Won · Kang, Soon-So* · Ryu, Do-Gon**
Dept. of Prescription, dept. of Physiology,
College of Oriental Medicine, Won-Kwang Univ., Iksan, Korea.

This experiment was carried out to evaluate the immunological effects of Hwanhonsan extract. Hwanhonsan administration into mice enhanced Arthus reaction and DTH to sheep erythrocytes, and NK cells activities. Hwanhonsan extract augmented the DNA synthesis of mitogen-activated lymphocytes.

Hwanhonsan also stimulated leucocyte migration ability, MIF and IL-2 production of T lymphocytes, but not IL-6 production of B cells. These results suggested that effect of

*원광대학교 한의과대학 방제학교실
**원광대학교 한의과대학 생리학교실

Hwanhonsan might be chiefly due to nonspecific enhancement of NK cell activities and cell mediated immune responses.

Key Words : NK cell, MIF, IL- 2, IL- 6

緒 論

明代 王¹⁾의 六科準繩에 還魂散이 「癰疽發背, 對口疔瘡, 乳癰, 無名腫毒, 一切惡瘡」 등을 治療한다고 最初로 收錄된 以來 歷代醫書²⁻¹²⁾에서 癰疽治療에 活用되어왔다. 본 處方の 藥物은 知母, 貝母, 白芨, 半夏, 天花粉, 皂角刺, 乳香, 金銀花, 穿山甲 各一錢으로 構成되어 있다. 名稱에 있어서 六科準繩^{1,3-6,8,9,11)}에는 內消散으로 東醫寶鑑^{2,7,10,12)}에는 還魂散으로 記錄되어 있으나 그 藥物의 內容과 分量은 同一하게 構成되어 있다.

현재까지 많은 연구자들에 의해 微生物과 植物들로부터 抽出된 다양한 種類의 天然産物의 構造와 生物學的 特性이 밝혀졌으며, 특히 細胞分裂 및 機能의 變化와 관련된 一部の 天然産物

은 중요한 生體反應調節物質(Biological Response Modifiers, BRM)로 취급되어 그 特性과 作用過程에 對해 研究되어 오고 있다¹³⁻¹⁹⁾. 天然産物이 연구자들의 關心의 對象이 되고 있는 理由는 一部の 天然産物에 抗腫瘍效果가 있다는 事實과 이들의 抗腫瘍效果가 腫瘍細胞의 分裂을 直接的으로 抑制하거나 또는 痛을 가진 動物(tumor-bearing animal)의 免疫能을 增加시켜 주는 것으로 밝혀지고 있기 때문이다. 특히 中國등에서는 西洋醫學의인 癌治療法과 并行하여 韓藥材를 活用함으로써 癌治療의 效率를 높이고 生存率을 增加시키며, 西洋醫學의인 癌治療로 因한 副作用을 줄이고 있다는 報告²⁰⁻²⁴⁾들을 접해 볼 때 우리 나라에서도 東洋醫學의인 癌治療法 및 補助療法이 開發되어야 할 것으로 보여진다.

構成藥物	生 藥 名	分量(g)
知 母	RHIZOMA ANEMARRHENAE	3.75
貝 母	BULBUS FRITILLARIAE	3.75
白 芨	RHIZOMA BLETILLAE	3.75
半 夏	RHIZOMA PINELLIAE	3.75
天花粉	RADIX TRICHOSANTHIS	3.75
皂角刺	SPINA GLEDITSIAE	3.75
乳 香	OLIBANUM	3.75
金銀花	FLOS LONICERAE	3.75
穿山甲	SQUAMA MANITIS	3.75
總分量		33.75

最近에는 우리 나라에서도 癰疽에 活用된 處方들에 對한 實驗的 研究²⁵⁻³⁶⁾가 活潑히 進行되고 있으나 還魂散에 關하여는 消炎, 鎮痛, 抗菌作用에 關한 研究³⁶⁾ 만이 있을 뿐이다.

이에 著者は 마우스를 대상으로 試驗管内 및 生體 免疫反應에 미치는 影響을 관찰하고자 NK 細胞의 活性度, 足趾腫脹反應과 凝集素 力價, 單核細胞와 림프구의 增殖能 및 lymphokine 生成度を 測定하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하고자 한다.

實驗材料 및 方法

1. 材料

1) 藥材

實驗에 使用한 還魂散의 內容과 分量은 東醫寶鑑²⁾에 準하였으며, 藥材는 圓光大學校 附屬 韓方病院에서 購入한 後 精選하여 使用하였다. 還魂散의 處方內容과 1貼 分量은 다음과 같다.

2) 動物

實驗 목적에 따라 生後 7-8週된 ICR 마우스 또는 C57BL/6 마우스를 암수 區別없이 使用하였으며 實驗群 및 對照群은 恒常 同性 (sex-matched)으로 하였다. 이들 動物은 물과 飼料를 자유로이 供給하면서 1週 以上 實驗室 環境(溫度는 $20 \pm 2^\circ\text{C}$, 濕度는 40-60%, 12時間 間隔의 明暗調節)에 適應시킨 後 使用하였다.

2. 方法

1) 試料의 製造

還魂散 5貼 分量(168.75 g)을 3,000 ml round flask에 蒸溜水 1000 ml와 함께 넣은 다음, 冷却器를 附着시키고 重湯으로 2時間동안 加熱하여 濾過한 後 rotary vacuum evaporator에서 200 ml로 減壓濃縮하고 濃縮된 試料를 freeze dryer를 利用하여 乾燥한 後 21.4 g을 얻어 必要한 濃度로 溶解하여 使用하였다.

2) 細胞의 準備

單核細胞의 準備는 마우스로부터 扁桃腺 또는 脾臟을 各各 얻어 이를 Hank's balanced salt solution(HBSS, Irvin Scientific)에서 조심스럽게 teasing하여 細胞 浮遊液을 만든 다음, 通常의 Ficoll-Diatrizoate(Pharmacia) 濃度區配法에 의하여 單核細胞만을 分離하고, 이를 HBSS로 洗滌한 後 2mM의 glutamine과 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 gentamicin, 그리고 牛胎兒血清(FCS, Gibco)이 含有되어 있는 RPMI 1640(이하 RPMI라 略함)에 2×10^6 cells/ml의 濃度로 浮遊하여 만들었다.

림프구 分離는 사람 扁桃腺으로부터 얻은 單核細胞를 plastic culture dish (10×20 mm, costar)에 넣어 37°C에서 1時間씩 2회 放置하여 單核球의 附着을 誘導, 除去한 後 2-aminoethylisothiuronium bromide(AET, Sigma)로 處理된 綿羊赤血球(AET-SRBC)를 使用한 rosette 形成法으로 하였다. 이 때 SRBC와 rosette을 形成한 細胞를 T細胞로, 그리고 non-rosette 細胞를 B細胞로 看做하였다. 이와 같이 準備한 T 및 B細胞는 各各 RPMI에 1×10^6 cells/ml로 浮遊하여 使用하였다.

한편, 本 實驗에 使用한 細胞株는 繼代 中인, Yac1 細胞이며 이細胞를 RPMI에 浮遊하여 使用하였다.

3) NK 細胞의 活性化 測定.

Lee등^{37,38)}이 應用한 single cell level assay 方法에 準하여 實施하였다. 1% agarose (electrophoresis grade, Grand Island Biological Co)를 蒸溜水로 만들어 高壓滅菌한 後 45°C 恒溫槽에 保管하고 여기에 2배 濃度의 RPMI를 同量 加하여 0.5% agarose液을 만들었다. 그 後 이를 2 ml의 pyrex 試驗管에 分注하여 40°C 恒溫槽에서 液狀을 維持하면서 實驗에 使用하였다. 作動細胞로는 여러 濃度의 還魂散 抽出液으로 1時間 동안 前處理한 마우스의 脾臟細胞를, 標的細胞로는 마우스의 lymphoma cell line인 Yac1 cell을