

## 交感丹의 투여가 STRESS에 의한 면역반응의 억제에 미치는 영향

원광대학교 한의과대학 신경정신과 교실

황현순 · 류영수

### I. 緒 論

한의학에서 氣란 인간의 생명력을 대표하는 인체기능을 포괄하는 개념으로서<sup>1)</sup>, 생리적으로는 인체를 구성하는 가장 기본적인 要素로서 체내생명발현의 원동력이 되는 것이며, 병리적으로는 “百病生於氣”<sup>2)</sup>라 하여 氣化作用의 失調로 邪氣가 침입하여 발생되거나, “人有七情 病生七氣”<sup>3)</sup>라 하여 情志의 변화로 氣病證이 발생한다고 하였다.

또한 『素問·舉痛論』<sup>2)</sup>에서는 “怒則氣上……思則氣結”이라 하여 情志로 인한 체내의 변화를 氣의 변화로 관찰하였으며, 그 결과 七氣, 九氣, 氣鬱, 氣逆 등과 같은 氣病證을 발생한다 하였다<sup>4)</sup>. 한편 『三因方』<sup>6)</sup>에서는 病因을 內因의 七情外에도 外因으로 六淫, 不內外因으로는 飲食, 疲極, 毒虫, 創傷 등 三因으로 나누어 인식하였고, 이와 같은 다양한 원인은 현대의학에서 stress疾患의 원인이라 할 수 있는 stressor와 비교될 수 있다고 하였다<sup>7)</sup>.

Stress란 생체내에서 생긴 非合理的인 생리변화 상태이고, 免疫系란 외부로부터 침입하는 微生物, 同種의 組織 혹은 체내에서 발생한 변이세포 등을 非自己인 抗原으로 인지하고 특이하게 반응하여 이것들을 배제하여 그 개체의 恒常性(homeostasis)을 유지하는 현상이라 할 수 있다<sup>8-11)</sup>. 아울러 stress는 개체 내부의 여러 hormone 등의 변화를 초래하여 면역기능을 억제하는 등 면역계와 밀접한 상관관계하에 있다고 하였다<sup>12-15)</sup>

또한 免疫反應이란 비특이적 선천적 반응과 특이적 후천적 반응이 있는 바 前者는 특이적 면역반응이 유도되기 전에 일시적으로 나타나는 반응이고, 後者는 림프구의 표면에 있는 특이적 수용체에 의하여 외부에서나 내부에서 유래한 非自我的인 이물질이 항원으로 특이적으로 인식되어 나타나는 반응이라고 간주되었으나, 최근의 연구결과에 따르면 大食細胞나 單球 등 비특이적 免疫反應을 나타내는 대표적인 세포들이 생체에 들어온 어떤 이물질에 대하여 免疫反應을 야기시킬 것인지 아닌지를 결정할 뿐만 아니라, 어떤 특이적 免疫反應을 일으킬 것인가까지 결정한다고 알려져 왔다<sup>16-21)</sup>

交感丹은 龔<sup>22)</sup>의 『萬病回春』에서 처음 언급된 이후 여러 醫家들에 의해 一切의 諸氣症에 사용되어 온 處方이다<sup>23-25)</sup>.

交感丹에 대한 stress와 면역계에 대한 연구로는 金<sup>26)</sup>이 交感丹과 蘇合香元 투여후 抗stress와 관련된 catecholamine 등과 같은 hormone 함량 변화에 대해서 보고한 바 있으나, 大食細胞의 貪食機能 등과 같은 免疫反應에 관한 연구는 접하지 못하였다.

이에 저자는 비특이적 면역반응에 대한 새로운 인식과 氣와 stress와의 상관성에 입각하여 交感丹이 騒音 stress에 의하여 유도되는 선천적 免疫反應의 억제에 대하여 미치는 영향을 조사했던 바 유의성있는 결과를 관찰하였기에 이에 보고하는 바이다.

## II. 材 料 및 方 法

### 1. 材 料

#### (1) 動 物

8-10주 사이의 Balb/C 생쥐(圓光大學校 韓醫科大學 實驗動物飼育室)로 cage(18×20cm)당 6個體의 밀도를 유지하였으며, 2주일간 실온에서 물과 사료(제일사료주식회사)를 충분히 공급하고, 낮과 밤의 주기를 12시간씩 조절하면서 사육한 다음 본 실험에 사용하였다.

#### (2) 藥材의 購入

본 실험에 사용한 交感丹은 圓光大學校 韓醫科大學 益山韓方病院에서 구입한 후 정선하여 사용하였다.

#### (3) 抗原<sup>27-29</sup>

胸腺 存在性 抗原으로 사용한 綿羊赤血球(Sheep Red Blood Cell : SRBC)는 全北大學校 獸醫科大學에서 사육하고 있는 綿羊의 頸靜脈으로 부터 채혈한 후 동량의 Alsever 氏液(pH 6.1)을 가하여 4℃에서 보관하면서 4주 이내에 사용하였으며, 보관중인 綿羊赤血球를 사용할 때는 사용직전에 滅菌한 PBS(Phosphate Buffered Saline, pH7.2)로 2-3회 세척하여  $1 \times 10^8$  cell의 농도로 적정한 후 사용하였다.

### 2. 方 法

#### (1) 檢液의 調製

본 실험에 사용된 交感丹은 「東醫寶鑑」<sup>24)</sup>에 記載된 것으로, 處方의 구성은 다음과 같다.

韓藥名	生藥名	用量(g)
香附子	Cyperi Rhizoma	16g
白茯苓	Hoelen	4g
總用量		20g

上記 交感丹을 성인분량 20g/60kg(1회)을 기준으로 하여 交感丹 20g을 2000ml round flask에 넣고 증류수 620ml를 가하여 100℃로 4시간 동안 重湯하여 濾過布로 濾過하였으며, 濾過液을 1000rpm에서 20분간 遠心分離

하여 얻은 上清液을 다시 重湯하여 100ml(1x)씩으로 농축하여 檢液으로 사용하였다.

#### (2) 騒音 stress 暴露

생쥐 5마리를 1군으로 하며 실험군에는 交感丹을 經口的으로 투여한 후 대조군과 함께 騒音의 강도가 90 - 95 dB이 되는 환경중에 12시간 露出시켰다.

#### (3) 檢液

##### 1) 生體內 實驗

각각의 檢液投與群에서는 檢液을 생쥐 1마리당 交感丹을 1x와 5x로 하여 1일 1회씩 14일 동안 경구투여하였으며, 대조군은 동량의 생리식염수(0.85% NaCl)를 동일방법으로 투여하였다.

##### 2) 生體外 實驗

정상 생쥐의 大食細胞를 분리한 후 각각의 檢液을 분리된 大食細胞에 처리한 후 6시간 배양하였다.

#### (4) 大食細胞의 貪食能 分析<sup>16-18,32-37</sup>

##### 1) 大食細胞의 誘導 및 分離

檢液 투여 14일된 실험군 생쥐의 상피를 절개한 후에 腹腔에 滅菌된 HBSS(Hank's Balanced Salt Solution : Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>-free) 5ml를 주사하여 Pasteur pipette으로 腹腔內의 大食細胞를 分離하였다. 分離된 大食細胞는 HBSS로 3회 세척한 후 貪食能 분석에 사용하였다.

##### 2) 大食細胞의 貪食能 分析

大食細胞의 貪食能 측정은 FITC로 라벨된 polystyrene latex particle(1.88μm, Polysciences, Warrington)을 사용하였다. 5% fetal bovine serum이 첨가되어 있는 RPMI 1640 medium에  $1 \times 10^6$ 개의 大食細胞와  $5 \times 10^7$ 개의 fluorescent latex particle 50μl를 첨가한 후 95% O<sub>2</sub>와 5% CO<sub>2</sub> 및 濕氣가 충분한 培養器에 45분간 37℃에서 배양하였다. 배양후 2ml의 cold HBSS를 첨가한 후 400g로 10분간 遠心分離하여 2회 반복 세척하였다. 綠色螢光을 나타내는 大食細胞의 貪食能은 流式細胞分離分析器로 측정하였다. 488nm 세기로 發光

된 argon-ion laser beam 200mw 출력에서 분석되었으며, 녹색형광물질은 530nm의 band pass filter에서 선택적으로 투과되어 감지되었다. 感知된 情報는 BDIS Consort 30 Computer Program에 의하여 百分率로 計算되었다. 大食細胞의 食食能 측정은 다음 公式에 따랐다.

$$\text{Phagocytic Activity(\%)} = \frac{T E_0 - T E_{45}}{T E_0} \times 100$$

TE<sub>0</sub> = FITC로 라벨된 latex particle(5×10<sup>7</sup>)과 大食細胞(1×10<sup>6</sup>)를 0시간 배양후 latex particle의 數.

TE<sub>45</sub> = FITC로 라벨된 latex particle(5×10<sup>7</sup>)과 大食細胞(1×10<sup>6</sup>)를 45分間 배양후 latex particle의 數.

(5) 培養中인 大食細胞에서 反應窒素中間物質生成能 測定(Reactive Nitrogen Intermediate : RNI<sup>19-21</sup>)

Reactive Nitrogen Intermediate(RNI)는 大食細胞 특히 생쥐의 腹腔內 大食細胞에서  $\gamma$ -IFN(Boehringer Mannheim, Germany)이나 LPS(Sigma, U.S.A.)또는 다른 微生物의 감염에 자극받아 L-arginine에 依存的으로 生成되며 이들이 特異的 또는 非特異的 免疫反應에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

RNI는 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NO 등이 있는데 이들은 細胞培養液에 축적되기 때문에 축적된 RNI를 發色시켜 ELISA reader로 측정하였다.

약물을 투여한 생쥐의 腹腔大食細胞를 분리한 후 96 well plate에 well당 1~2×10<sup>5</sup>개로 넣어주었다.  $\gamma$ -IFN이나 LPS, 또는 RNI生成 阻害劑, 교감단을 각각의 농도에 따라 培養細胞에 첨가하고 48시간 동안 배양한 후에 각 well로부터 100 $\mu$ 씩의 培養液을 취하여 ELISA Titer Tek plate에 옮긴 후 동량의 Griss Reagent(1:1, v/v, N-1-naphthylethyldiamine 0.1% in H<sub>2</sub>O, sulfanilamide 1% in 5% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)를 첨가하고 10분간 室溫에 두었다. 전체 RNI Titer Tek Multiscan MCC/340(Flow Lab)으로 540nm에서 吸光度를 측정했다. 이때 RNI농도에 대한 표준곡선은 NaNO<sub>2</sub>를 연속회석하여 얻었다.

(6) 食食細胞의 反應窒素中間物質(ROI : Reactive Oxygen Intermediate) 生成能의 측정<sup>16-18)</sup>

1) 腹腔大食細胞의 誘導

① 生體內 實驗

약물이 투여된 생쥐의 腹腔에 滅菌된 PBS(pH7.2)로 腹腔을 세척하여 腹腔 大食細胞가 충분한 peritoneal exudate cell(PEC)을 얻었다. PEC는 차가운 PBS로 400g에서 10분간 遠心分離하여 2회 세척한 후 veronal buffered saline(Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, albumin, glucose 포함)에 5×10<sup>6</sup>cells/300 $\mu$ l가 되도록 적정한 후 chemiluminescence (CL)를 측정하였다.

② 生體外 實驗

정상 생쥐의 腹腔에 滅菌된 PBS(pH7.2)로 腹腔을 세척하여 腹腔 大食細胞가 충분한 PEC를 얻었다. 交感丹을 각각의 농도로 첨가하여 6시간 배양후에 세포를 harvest하여 차가운 PBS로 400g에서 10분간 遠心分離하여 2회 세척한 후 veronal buffered saline(Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, albumin, glucose 포함)에 5×10<sup>6</sup>cells/300 $\mu$ l가 되도록 적정한 후 CL을 측정하였다.

2) Lucigenin에 의해 誘導된 CL의 測定

Veronal buffered saline을 이용해 5×10<sup>6</sup>cells/300 $\mu$ l로 적정된 PEC 單細胞 浮遊液을 Luminometer(LB 9509, Berthold)內에서 37 $^{\circ}$ C로 15-30분동안 preincubation시킨 후 O<sub>2</sub>를 측정할 수 있는 chemiluminogenic probe인 10mM의 Lucigenin 10 $\mu$ l를 주입하고 안정화시킨 후 大食細胞를 자극시킬 수 있는 5.3 $\mu$ M phorbol myristate acetate(PMA) 10 $\mu$ l를 주입하고 37 $^{\circ}$ C 조건에서 약 60분간 CL을 측정했다.

3) Luminol에 의해 誘導된 CL의 測定

Veronal buffered saline을 이용해 5×10<sup>6</sup>cells/300ml로 적정된 PEC單細胞 浮遊液을 Luminometer(LB 9509, Berthold)內에서 37 $^{\circ}$ C로 15-30분동안 preincubation시킨 후 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 측정할 수 있는 chemiluminogenic probe인 10mM의 luminol 10 $\mu$ l를 주입하고 안정화시킨 후 大食細胞를 자극시킬 수 있는 5.3 $\mu$ M PMA 10 $\mu$ l를 주입하고 37 $^{\circ}$ C 조건에서 약 60분간 CL을 측정했다.

(7) Rosette形成細胞 測定<sup>28-32)</sup>

Rosette形成細胞(Rosette Forming Cell : RFC)의 측정은 Bach 등의 방법에 따라서 측정하였다. 單核細胞浮遊液은 실험군의 BALB/C 생쥐로부터 腹腔을 절개하여 脾臟(2개체혼합)을 적출한 후 Ficoll-paque을 이용하여 400g로 遠心分離시켜 얻었다. 이렇게 얻은 單核細胞混合浮遊液을  $3 \times 10^7$ 개의 細胞로 준비한 다음 附着細胞를 제거하기 위해서 滅菌된 주사기(2ml)에 Glass Wool을 體積하여 2ml의 細胞浮遊液을 첨가한 후 37°C에서 30분동안 배양하였다. 그 후 냉각된 15ml의 HBSS를 계속해서 주사기에 주입하여 통과시켰다. 이와 같이 준비된 淋巴球를  $1 \times 10^6$ 細胞로 적정한 후에  $1 \times 10^7$ SRBC를 혼합하여 37°C에서 1시간 동안 배양하였다. RFC의 측정은 상기와 같이 배양된 細胞浮遊液을 4°C暗冷狀態에서 12時間 以上 保管한 후 400X 顯微鏡視野에서 淋巴球 한개당 3개 이상의 SRBC가 부착된 것을 檢鏡하여 결정하였다.

III. 實驗成績

1. 體重變化에 미치는 영향

交感丹의 투여가 BALB/C 생쥐의 체중변화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 stress를 주기 前과 後의 체중을 측정한 결과, stress를 받은 생쥐는  $2.2 \pm 0.3$ g 감소한 반면 stress를 주고 交感丹 1x를 투여한 생쥐는  $0.4 \pm 0.1$ g, 交感丹 5x를 투여한 생쥐는  $0.5 \pm 0.1$ g 증가하였다. 한편 stress를 주지 않고 蒸溜水와 交感丹만 투여한 생쥐는 각각  $1.1 \pm 0.2$ g,  $0.8 \pm 0.2$ g 증가하였다 (Table 1).

Table 1. Effect of *Gyogamdan*(GGD) on the changes of body weight of mouse in stress

Group	Initial body weight	Final body weight	Weight loss
W *	$23.2 \pm 0.3$	$24.3 \pm 0.4$	$+1.1 \pm 0.2$
W + S *	$23.7 \pm 0.5$	$21.5 \pm 0.4$	$-2.2 \pm 0.3$
GGD 1x	$23.3 \pm 0.4$	$24.9 \pm 0.3$	$+0.8 \pm 0.2$
GGD 1x + S	$23.2 \pm 0.5$	$23.6 \pm 0.3$	$+0.4 \pm 0.1$
GGD 5x + S	$23.5 \pm 0.4$	$24.0 \pm 0.4$	$+0.5 \pm 0.1$

\* : Water

\*\* : Stress

2. 大食細胞의 貪食能에 미치는 영향

(1) 生體內 實驗

交感丹의 투여가 BALB/C 생쥐의 大食細胞 貪食能에 미치는 영향을 살펴보기 위하여, 14일간 檢液을 투여한 실험군 생쥐에서 大食細胞를 分離한 후 FITC로 라벨된 polystyrene latex particle( $1.88\mu\text{m}$ )과 같이 배양한 다음, 流式細胞 分離 分析器로 大食細胞가 latex particle을 貪食한 活性化도를 측정하였던 바, stress를 준 실험군에서는  $18.7 \pm 3$ 의 活性化도를 보였으며 이에 대하여 stress를 주고 交感丹 1x와 5x를 투여한 실험군에서는  $25.8 \pm 5$ 와  $23.2 \pm 3$ 으로 증가하는 경향을 보였다. 한편 stress를 주지 않고 蒸溜水와 交感丹만 투여한 생쥐에서는 각각  $31.2 \pm 2$ ,  $43.8 \pm 3$ 를 나타내었다(Fig. 1).

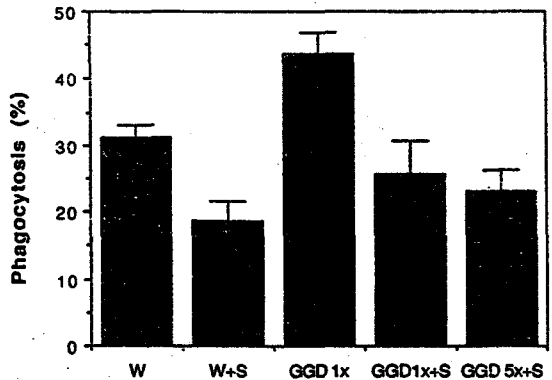


Fig. 1. *In vivo* effects of GGD administrations on phagocytic activity. The phagocytic activity was calculated by means of Consort 30 program of FACStar. The above data show mean  $\pm$  S.E.  $P < 0.05$  compared with the W group.

(2) 生體外 實驗

交感丹을 生體外에서 처리했을 때 BALB/C 생쥐의 大食細胞 貪食能에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 thioglycolate(TG) injected 정상 생쥐의 腹腔 大食細胞를 分離하여 交感丹을 각 농도로 처리한 뒤 6시간 배양후에 收穫한 細胞를 FITC로 라벨된 latex particle과 배양하여 活性化도를 측정한 결과는 Fig. 2와 같다.

stress를 준 실험군(15.2±3)에 비하여 stress를 주고 交感丹 1x와 5x를 투여한 실험군에서는 23.8±3과 27.4±4으로 증가하는 경향을 보였다. 한편 stress를 주지않고 蒸溜水和 交感丹만 투여한 생쥐에서는 각각 25.2±3, 35.4±2를 나타내었다(Fig. 2).

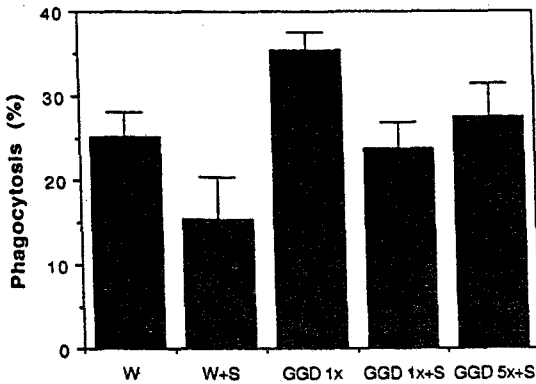


Fig. 2. *In vitro* effects of GGD administrations on phagocytic activity. Thioglycolate-elicited macrophages were incubated with GGD for 6 hours. The cells were harvested, centrifuged and measured for phagocytic activity. The phagocytic activity was calculated by means of Consort 30 program of FACStar. The above data shows mean ± S.E. P<0.05 compared with the W group.

### 3. 貪食細胞의 反應酸素中間物質 (Reactive Oxygen Intermediates : ROIs)生成能에 미치는 영향

#### (1) 生體內 實驗

交感丹의 투여가 BALB/C 생쥐의 大食細胞의 ROI 생성에 미치는 영향을 살펴보기 위하여, 交感丹을 14일간 투여한 생쥐의 腹腔 大食細胞를 分離한 다음 細胞  $1 \times 10^6$  cell/300 $\mu$ l에 lucigenin과 luminol을 각각 첨가하여 CL로 그 활성도를 측정하였던 바 Fig. 3 및 Fig. 4와 같다. Fig. 3에서는 lucigenin에 의해 誘導된 大食細胞의 활성도를  $\text{CMP} \times 10^6$ 값으로 계산한 결과, stress를 준 실험군은  $8.3 \pm 4 \times 10^6$ 인데 비하여 stress를 주고 交感丹 1x와 5x를 투여한 실험군에서는  $15.1 \pm 2 \times 10^6$ 과

$17.2 \pm 3 \times 10^6$ 로 정상 실험군의  $14.2 \pm 3 \times 10^6$ 와 같은 값으로 증가하는 경향을 보였다(Fig. 3).

Fig. 4에서는 luminol에 의해 誘導된 大食細胞의 활성도를  $\text{CMP} \times 10^6$ 값으로 계산한 결과, stress를 준 실험군은  $7.0 \pm 2 \times 10^6$ 인데 비하여 stress를 주고 交感丹 1x와 5x를 투여한 실험군에서는  $13.5 \pm 2 \times 10^6$ 과  $16.2 \pm 2 \times 10^6$ 로 정상 실험군의  $10.4 \pm 4 \times 10^6$ 와 같은 수준으로 증가하는 경향을 보였다(Fig. 4). 한편 交感丹 1x만 처리한 실험군에서는  $28.5 \pm 3 \times 10^6$ 을 나타내었다.

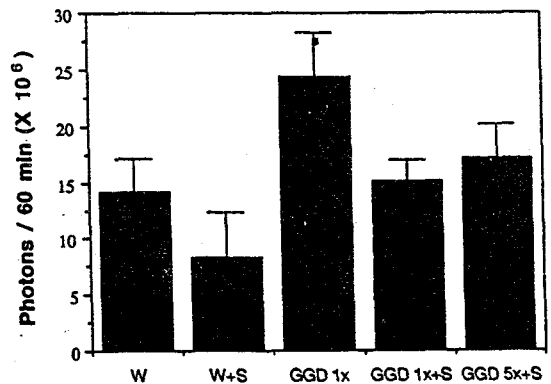


Fig. 3. *In vivo* effects of GGD administrations on the superoxide radical formation. Mice were given the drug for 14 days. Chemiluminogenic probe was done with 10mM of lucigenin(10, 10'-dimethyl-9, 9-biacridinium : DBN2'), which is amplifying superoxide radicals. Murine peritoneal macrophages( $1.0 \times 10^6$  cells/300 $\mu$ l) were stimulated by 5.3 $\mu$ M) PMA, and the measurement of superoxide radicals was carried out in the chemiluminometer for 60 minute at 30 $^{\circ}$ C. The above data shows mean ± S.E. P<0.05 compared with the W group.

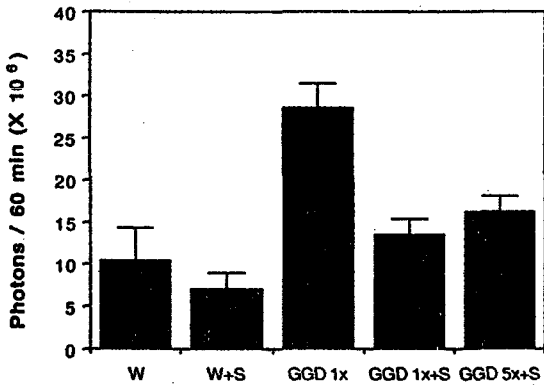


Fig. 4. *In vivo* effects of GGD administrations on the hydrogen peroxide radical formation. Mice were given the drug for 14 days. Chemiluminogenic probe was done with 10mM of luminol(5-amino-2, 3-dyhydro 1,4-phthalazinedione), which is amplifying hydrogen peroxide radicals. Murine peritoneal macrophages( $1.0 \times 10^6$  cells/300 $\mu$ l) were stimulated by 5.3 $\mu$ M PMA, and the measurement of hydrogen peroxide radicals was carried out in the chemiluminometer for 60 minute at 30 $^{\circ}$ C. The above data shows mean  $\pm$  S.E.  $P < 0.05$  compared with the W group.

(2) 生體外 實驗

生體外에서 交感丹의 영향을 알아보기 위하여 정상 생쥐로부터 腹腔 大食細胞를 分離한 후 1x와 5x의 交感丹을 細胞에 직접 처리하여 6시간 배양한 후 細胞를 收穫하여 상기와 같은 방법으로 측정하였다.

Fig. 5에서는 lucigenin에 의해 誘導된 大食細胞의 활성도를  $\text{CMP} \times 10^6$ 값으로 계산한 결과, stress를 준 실험군은  $10.8 \pm 3 \times 10^6$ 인데 비하여 stress를 주고 交感丹 1x와 5x를 투여한 실험군에서는  $18.4 \pm 2 \times 10^6$ 과  $16.2 \pm 2 \times 10^6$ 로 정상 실험군의  $18.2 \pm 2 \times 10^6$ 과 같은 값으로 증가하는 경향을 보였다(Fig. 5). 또한 luminol에 의해 誘導된 大食細胞의 활성도를  $\text{CMP}$ 값으로 계산한 결과 stress를 준 실험군은  $10.5 \pm 4 \times 10^6$ 인데 비하여 stress를 주고 交感丹 1x와 5x를 투여한 실험군에서는  $17.3 \pm 3 \times 10^6$ 과  $16.5 \pm 2 \times 10^6$ 으로 증가하는 경향을 보였다(Fig. 6).

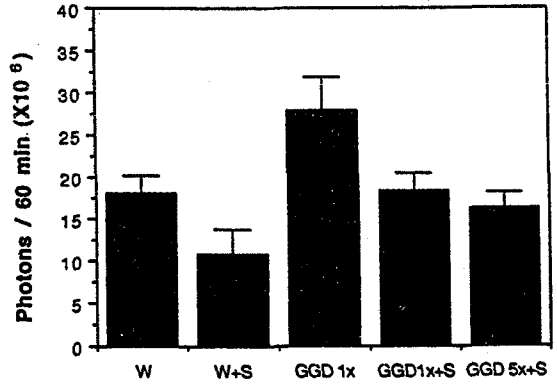


Fig. 5. *In vitro* effects of GGD administrations on the superoxide radical formation. TG-elicited macrophages were incubated with GGD for 6 hours. The cells were harvested, centrifuged and measured for superoxide formation. Chemiluminogenic probe was done with 10mM of lucigenin(10, 10'-dimethyl-9, 9-biacri-dinium : DBN2<sup>+</sup>), which is amplifying superoxide radicals. The cells were stimulated by 5.3 $\mu$ M PMA, and the measurement of superoxide radicals was carried out in the chemiluminometer for 60 minute at 37 $^{\circ}$ C. The above data shows mean  $\pm$  S.E.  $P < 0.05$  compared with the W group.

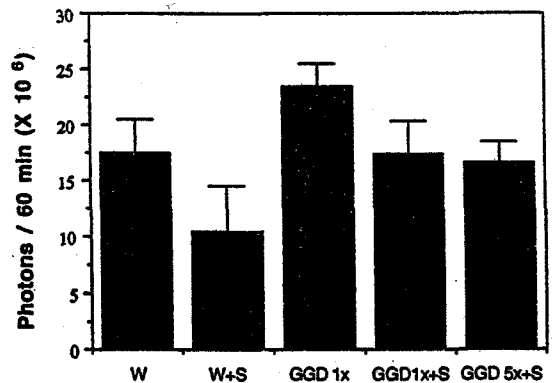


Fig. 6. *In vitro* effects of GGD administrations on the hydrogen peroxide radical formation. TG-elicited macrophages were incubated with GGD for 6 hours. The cells were harvested,

centrifuged and measured for hydrogen peroxide formation. Chemiluminescent probe was done with 10mM of luminol(5-amino-2,3-dihydro 1,4-phthalazine- dione), which is amplifying hydrogen peroxide radicals. The cells were stimulated by 5.3μM PMA, and the measurement of hydrogen peroxide radicals was carried out in the chemiluminometer for 60 minute at 37°C. The above data shows mean  $\pm$  S.E.  $P < 0.05$  compared with the W group.

4. 貪食細胞의 反應素中間物質(Reactive Nitrogen Intermediates : RNIs) 生成能에 미치는 영향

交感丹이 腹腔 大食細胞의 RNI 생성에 미치는 영향을 조사해 보기 위하여 배양중인 생쥐의 腹腔 大食細胞 ( $1 \times 10^5$  cell/200μl)에 交感丹을 각 농도에 따라 10μl/well씩 넣은 후 48시간 배양한 다음 RNI의 生成程度를 측정하고, 대조군과 비교하여 볼 때 stress를 준 실험군에 비해 stress를 주고 교감단 1x와 5x를 투여한 실험군에서는 13±3과 14±2로 약간 증가하였다(Table 2). 한편 stress를 주지 않고 증류수와 交感丹만 투여한 생쥐에서는 각각 5±2, 15±3를 나타내었다.

Table 2. Effects of GGD on the secretion of nitrite in murine peritoneal macrophages

Treatment	Nitrite Conc. (μM/L)
Medium only	7 ± 2
γ-IFN	17 ± 4
LPS	22 ± 5
γ-IFN + LPS	69 ± 7
W	8 ± 2
W + S	5 ± 2
GGD 1x	15 ± 3
GGD 1x + S	13 ± 3
GGD 5x + S	14 ± 2

TG-elicited macrophages were cultured for 48 hours with either in medium alone or in medium containing IFN-γ(5U/ml) and/or LPS or GGD. The amount of NO<sup>2-</sup> released by macrophages were

measured after 48 hours of incubation. NO<sup>2-</sup> was measured spectrophotometrically as described in Material and Methods. Values are means  $\pm$  SD of four experiments.

5. Rosette 形成細胞에 미치는 영향

Stress를 준 BALB/C 생쥐에 있어서 交感丹의 투여가 綿羊赤血球에 대한 免疫反應細胞數를 비교하기 위해, 생쥐로부터 脾臟을 적출하여 RFC數를 측정하였던 바 Fig. 7과 같았다. 대조군(stress를 준 實驗群)의 10<sup>6</sup> 脾臟細胞當 10<sup>3</sup> RFC의 數는 대조군이 30.4±6인데 비해, stress를 주고 交感丹 1x와 5x를 투여한 실험군에서는 39.3±5과 36.9±3로 유의성있게 증가하였다(Fig. 7). 한편 stress를 주지 않고 증류수와 交感丹만 투여한 생쥐에서는 각각 41.5±4, 65.2±4를 나타내었다.

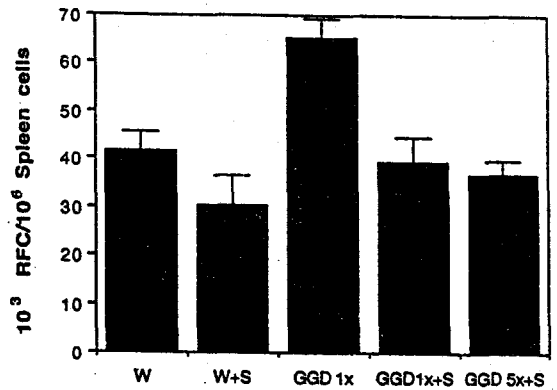


Fig. 7. Effects of GGD administrations on the appearance of RFC in mice. Mice were immunized with SRBC, and spleen cells were assayed for RFC at 8 days after immunization. Mice were orally given GGD for 14 days before sensitization. The above data shows mean  $\pm$  S.E.  $P < 0.05$  compared with the W group.

#### IV. 考 察

인체를 순환하는 氣는 天氣와 水穀의 氣에서 生하여, 一身을 周流하면서 全身의 기능을 復活 調節하는데 단계의 변화인 六氣는 生체자극의 外적 요인이 되고, 내외의 환경에 의해 情志의 變化가 야기되는 七情은 生체 자극의 內적 요인이 되며, 이들 요인들이 자극을 받으면 生체는 生理와 病理에 상응하는 변화를 초래하게 된다<sup>6,7)</sup>. 그러나 그 정도가 과도하여 조절범위를 넘어서면 인체의 氣機는 紊亂하게 되며 各種 病變까지도 생기게 된다<sup>38)</sup>. 이러한 氣病證이 氣機失調이며 다시 氣陷, 氣滯, 氣逆, 氣閉, 氣脫 혹은 七氣, 九氣, 中氣, 氣鬱, 氣逆 등의 病理로 분류되고 있다<sup>39-41)</sup>. 氣病證中에서 氣의 病理의 요소로 순환장애가 오는 상태를 九氣, 氣鬱, 中氣, 氣痛, 氣逆으로 분류할 수 있으며, 氣의 出入에서 생긴 장애를 少氣, 短氣로 나눌 수 있고, 氣의 상태에 따라 上氣, 下氣가 發病한다고 하였다<sup>41)</sup>.

Stress란 개인으로 하여금 적응에의 요구를 강요하는 身體的 또는 心理的인 압박상태를 말한다. Stress가 과도하고 지속적인 경우에는 개인의 잠재적 능력을 지나치게 소모시켜서 기능장애를 일으키는데 이를 신체가 어떤 요구에 대하여 일으키는 신체의 不特定反應이라 정의하였다<sup>42)</sup>. Stress에 原因이 되는 자극을 刺戟要因 즉 stressor라고 하는데, 이에는 寒冷, 熱, 氣候, 騒音 등과 같은 物理的 因子, 藥物, 細菌, 感染 등과 같은 生物化學的 因子인 外部的 因子와 社會환경 등의 정신적 자극인자, 피로 등의 內部的 因子가 있다. 또한 이러한 外部的, 內部的 因子로 인하여 만성적인 stress가 발생하면 일련의 神經系 및 內分泌 活動에 영향을 주고 주로 腦下垂體-副腎皮質系가 주된 役割을 한다고 하였다<sup>12)</sup>.

免疫系란 外部로부터 침입하는 微生物, 同種의 組織이나 체내에서 발생한 변이세포 등을 非自己인 抗原으로 인식하고 특이하게 인식하여, 세포성 및 체액성 免疫反應을 야기하여 이를 배제함으로써 그 개체의 恒常性을 유지하려는 현상으로 生체가 自己와 非自己를 식별하는 機構라 할 수 있다. 免疫系에 의하여 수행되는 특이적 免疫反應은 크게 2가지로 양분되는 바, 體液性 免疫反應이란 抗原 特異性 因子인 抗體에 의하여 이루어지고, 細胞보다는 血清에 존재하며, 이러한 抗體는 T

細胞의 도움을 받아서 B細胞에 의하여 생산되고, 細胞性 免疫反應이란 주로 감작된 T細胞에 의하여 이루어지며 경우에 따라서는 림프구 다형핵 백혈구, 大食細胞 등도 관여한다<sup>43,44)</sup>.

Stress와 免疫과의 관계를 살펴보면, 生체는 生命을 유지하기 위하여 中樞神經系, 內分泌系, 免疫系가 있어서 안팎의 刺戟因子에 노출되면 이 계통을 통하여 정상 상태를 유지하려 하므로 stress와 免疫反應은 밀접한 관계가 있으며, 認知的 및 非認知的 stress가 免疫機能에 막대한 영향을 미친다는 보고가 있어 왔다<sup>12)</sup>. 中樞神經系와 內分泌系에 刺戟因子가 가해지면, 視床下部는 副腎皮質刺戟호르몬(corticotrophic releasing hormone, CRH)을 방출하고, 다시 腦下垂體에 작용하여 ACTH나  $\beta$ -endorphine의 분비를 촉진하고, ACTH는 副腎皮質을 자극하여 corticosteroid의 분비를 촉진한다. 또한 腦幹에서는 交感神經을 흥분시켜 標的臟器에 있는 adrenergic nerve endings에서 norepinephrine을 방출시키고 副腎髓質에서는 epinephrine을 방출시켜서 이때 방출된 corticosteroid와 catecholamine이 免疫機能을 변화시킨다고 보고되어 stress가 免疫機能에 영향을 미치는 중요한 機轉은 corticosteroid와 catecholamine에 의한 것이라고 할 수 있으며, corticosteroid는 免疫機能에 抗炎症的이고 免疫抑制的인 효과를 미치고, catecholamine은 Bishpric 등<sup>45)</sup>이 그 수용체를 lymphocyte에서 발견하여 이들 수용체에 대한 자극은 細胞의 반응을 감소시키며 免疫機能을 억제시킨다고 하였다<sup>12,13)</sup>.

이에 대한 연구로 Stein 등<sup>15)</sup>은 stress로 인하여 免疫系의 기능이 低下나 先進이 발생한다고 보고하였고, Fujiwara 등<sup>46)</sup>은 抗體生産에 대한 catecholamine의 생체내 효과를 알아본 실험에서 catecholamine을 외부에서 투여한 경우 自律神經系가 활성화되고 抗體生産이 항진되었으며, 綿羊赤血球에 대한 抗體形成反應이 항진되었다고 하였는데, 이는 交感神經系를 통하여 副腎으로부터 분비된 epinephrine에 기인한다고 하였고, Canon<sup>11)</sup>은 stress에 대한 副腎의 반응을 연구하여 adrenaline이 stress에 대한 생체반응의 주요 인자라고 하였고, Tanaka 등<sup>47)</sup>은 拘束 stress에서 norepinephrine의 분비가 250%증가하였다고 보고하였다. 視床下部-腦下垂體-副腎皮質軸(hypothalamus-pituitary-adrenal



axis)은 stress뿐만아니라 免疫系에도 복잡한 조절작용을 갖게 된다고 하였다. 최근에는 hypothalamic immunopituitary adrenal axis(HIPA축) 또는 免疫神經內分泌調節機構가 있음이 밝혀졌으며, 免疫系는 다른 중요한 homeostatic system의 경우처럼 외적 및 내적 환경에 대단히 예민하며 내분비에 의하여 免疫反應도 변화된다고 하였고, 이들은 神經-內分泌系를 조절하여 인체 및 동물의 생물학적 반응에 영향을 미쳐 恒常性 유지에 중요한 역할을 한다고 하였다<sup>48)</sup>.

Stress와 면역반응에 관한 한의학적 연구로, 金 등<sup>26)</sup>은 拘束 stress를 준 마우스에 交感丹 투여후 抗stress와 관련 catecholamine, cortisol, aldosterone 등과 같은 hormone 함량 변화에 대한 보고는 있었으나, 交感丹에 대한 大食細胞의 食食機能, rosette 形成細胞數 등과 같은 免疫反應에 관한 보고는 접하지 못하였다.

交感丹은 龔<sup>22)</sup>의 『萬病回春』에서 처음 언급되어 “公私拂情 名利失志 抑鬱煩惱 七情所傷 不思飲食 面黃形羸 胸膈諸證”이라 하여 一切의 諸氣症을 主治한다 하였고, 許<sup>24)</sup>는 諸氣鬱滯를 主治하며, 能히 水火의 昇降을 조절할 수 있다 하였고, 또한 李<sup>49)</sup>는 氣成鬱不解에 사용한다 하였으며, 脫營, 心腎不交에 사용하여 降火水升시킨다고 하였다.

交感丹의 處方 構成을 보면, 香附子是 辛溫하며 諸氣 開鬱, 降氣하여 胸膈上下를 疏通하고, 白茯苓은 甘平하여 入心肝하여 安神, 定驚志하는데 香附子와 白茯苓이 合해지면 行氣和水하여 能히 十二經絡을 通한다고 하였다<sup>50-55)</sup>.

최근의 연구에 의하면 림프구에 의한 특이적 免疫反應이 T細胞에 의한 細胞性 免疫反應과 B細胞에 의한 體液性 免疫反應으로 분류되지만 중립적 위치에 놓여 있는 협력 전구 T細胞(Th<sub>0</sub>)가 Th<sub>1</sub>細胞를 분화하면 細胞性 免疫反應을 야기하고, Th<sub>2</sub>細胞로 분화하면 體液性 免疫反應을 야기한다고 밝혀졌다. 그런데 이러한 결정은 비특이적 免疫反應을 능동적으로 담당하는 大食細胞에 의하여 이루어짐이 최근 밝혀졌다. 즉 大食細胞는 食食機能과 效果機能뿐만 아니라 염증세포를 抗原이 있는 곳으로 끌어 모으는 炎症機能(Inflammatory function)과 Th<sub>0</sub>細胞를 자극하는 공동자극기능이 있어 大食細胞가 抗原을 食食하여 T細胞에 抗原을 전달하는

과정에서 Th<sub>0</sub>細胞를 Th<sub>1</sub> 혹은 Th<sub>2</sub>細胞로 분화하게 하는 바 이 결정은 어떤 抗原에 대한 개체의 免疫反應의 질을 결정하는 일로서 어떠한 免疫反應을 보일 것인가가 이 때에 이루어 진다. 또한 大食細胞가 食食하는 물질은 大食細胞에 의하여 인식되어야 하기 때문에 免疫反應이 일어날 것인가 아닌가에 대한 결정도 大食細胞에 의하여 일어난다고 볼 수 있다<sup>16-21,44,45)</sup>.

본 실험에서 交感丹이 騒音 stress에 의한 여러 가지 생체변화중 가장 보편적이라 할 수 있는 체중감소를 정상화 내지는 증가시킴을 알 수 있었고(Table 1), 또한 騒音 stress는 大食細胞의 食食機能뿐만 아니라 大食細胞의 效果機能인 반응산소 중간물질의 감소를 초래하는데 반하여 交感丹의 투여는 이러한 stress에 의한 大食細胞의 效果機能を 회복시켰을 뿐만 아니라 交感丹의 극소량을 시험관내에서 大食細胞에 노출시켰을 경우에서도 交感丹이 大食細胞의 效果機能과 食食機能 등을 향상시켰으며, 반응산소 중간물질은 증가시켰으나 반응질소 중간물질에는 영향을 주지않았음을 알 수 있었고(Fig. 3-6), 騒音 stress가 脾臟의 rosette 形成細胞數의 감소를 초래하였는데 반하여 交感丹의 투여는 이러한 stress에 의한 rosette 形成細胞數를 회복시켰을 뿐만 아니라 향상시켰음을 알 수 있었다(Fig. 7).

이와 같이 생체가 stress에 노출되면 항상성을 유지하기 위한 저항으로 생리변화가 일어나며, 저항력이 상대적으로 약해져서 면역력의 저하가 일어나 다양한 질병을 발생시키기도 하고, 한편으로는 自律神經系의 失調現狀을 나타내기도 하는데<sup>56)</sup>, 본 실험에서의 交感丹은 stress로 인하여 저하된 大食細胞의 食食機能과 效果機能인 반응산소중간물질, rosette 形成細胞數 등과 같은 免疫力를 회복시키거나 향상시켰으며, 이는 交感丹이 한의학적으로 一切의 諸氣症에 사용된다는 점과 附合되는 점이 있다고 생각된다.

이러한 실험결과로 미루어 볼 때 騒音에 시달려서 생기는 여러 가지 感染疾患은 騒音 stress에 의한 免疫能의 저하로 초래될 수 있고, 이러한 免疫能의 저하는 交感丹의 투여로 회복될 수 있으므로 stress에 의한 感染病에 交感丹의 투여는 유효할 것이라고 사료된다.

### V. 結 論

· 交感丹이 stress를 받은 생쥐의 免疫細胞기능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 生體內 및 試驗管內에 투여하여 免疫反應에 변화를 관찰하고, 이러한 변화가 체내의 免疫系에 미치는 영향에 대하여 조사하였던 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 交感丹은 生體 및 試驗管內에서 貪食細胞의 貪食能을 증가시켰다.
2. 交感丹은 生體 및 試驗管內에서 superoxide 및 hydrogen peroxide 같은 反應酸素中間物質의 생성을 증가시켰다.
3. 交感丹을 試驗管內에서 투여했을 때 反應窒素中間物質의 生成能에는 영향을 주지 않았다.
4. 交感丹은 脾臟에서 rosette 形成細胞의 數를 증가시켰다.

이상의 실험 결과를 토대로 하여 볼 때 交感丹은 stress를 받은 생쥐에 있어서 生體內 및 試驗管內에서 개체의 特異的 및 非特異的 免疫系에 작용하여 숙주의 免疫機能을 항진시킴을 알 수가 있었으며, 이는 stress로 인한 免疫機能의 저하로 발생할 수 있는 질환에 交感丹이 광범위하게 활용할 수 있음을 뒷받침하는 실험적 결과로 사료된다.

### 參 考 文 獻

1. 金完熙 : 臟腑辨證論治, 서울, 成輔社, p.49, 81, 83, 1985.
2. 洪元植 譯 : 精校黃帝內經素問, 서울, 동양의학연구원출판사, p.74, 92, 145, 146, 1981.
3. 蔡仁植 : 漢方臨床學 辨證施治, 서울, 大星文化社, pp.75-79, 1987.
4. 黃義完 · 金知赫 : 東醫精神醫學, 서울, 現代醫學書籍社, pp.99-109, 651-657, p.783, 1987.
5. 黃義完 : 心身症, 서울, 杏林出版社, pp.21-29, 33-49, 1985.
6. 陳無擇 : 三因方, 서울, 한성사, p.9, 1977.

7. 文流模 · 黃義完 · 金知赫 : Stress에 관한 문헌적 고찰, 東醫神經精神科學會誌, 2(1):38-50, 1991.
8. Selye. H : The stress of life, Toronto, Longmans Green and Co, pp.1-50 1958 Stress, Canada, Acta. Inc, pp.5-13 1950.
9. 田多井吉之介 : 新版 스트레스, 大版, 創元社 2nd Ed., pp.4-5, 1983.
10. 李淵壹 : 最新免疫學, 서울, 集文堂, p.33, 1985.
11. Cannon, W.B. : The wisdom of the body, New York, Norton and Company Inc, pp.19-40, 1963.
12. 호시게이코(閔炳一譯) : 스트레스와 免疫, 서울, 電波科學社, p.23, pp.56-60, 73-82, 1994.
13. 강병조 : 스트레스와 精神神經免疫學, 精神健康研究, 漢陽大學校健康研究所, 10:65-80, 1991.
14. Udelman, H.D. and Udelman, D.I. : Current explorations in Psychoimmunology, Amer. J. Psychotherapy, 37:210, 1983.
15. Stein, H., Schiavi, R.C. and Comerino, M. : Influence of brain and behavior on the immune system, Science, 191:435, 1976.
16. Walker, W.S., Hester, R.B. and Beelen, R.H.J. : Persistent expression of IgA-antigen on a subpopulation of murine resident peritoneal macrophages. Cell. Immunol., 79:125, 1983.
17. Winter, M. and Buschmann, H.G. : Measuring phagocytic capacity in polymorphonu clear cell of the pig a comparison between different assay, J. Vet. Med., 834:504, 1987.
18. Winy, E.J., Gardner, I.D., Ryminy, F.W. and Reminyton, J.S. : Dissociation of effector functions in populations of activated macrophages Nature, 268:642, 1977.
19. Hibbs, J.B., Jr., L.H. Lambert, Jr., and J.S. Remington. Possible role of macrophage-mediated nonspecific cytotoxicity in tumor resistance. Nature ; New Biol., 235, 48, 1972.
20. Hibbs, J.B., Jr., R.R. Taintor, H.A. Chapman, Jr., and J.B. Weinberg Macrophage tumor killing : influence of the local environment. Science, 197,

- 1977.
21. Drapier J.C., and Hibbs, J.B., Jr. Differentiation of murine Macrophages to express nonspecific cytotoxicity for tumor cells results in L-argine-dependent inhibition of mitochondrial iron-sulfer enzymes in the macrophage effector cells. *J. Immunol.*, 140, 2689-2838, 1988
  22. 龔廷賢 : 萬病回春, 北京, 人民衛生出版社, p.67, 162, 1927.
  23. 周命新 : 醫門寶鑑, 서울, 성문당, p.72, 73, 1918.
  24. 許 浚 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, p.92, 1989.
  25. 申載鏞 : 方藥合編解說, 서울, 成輔社, p.146, 147, 1988.
  26. 金起代, 鄭大奎 : 交感丹과 蘇合香元 投與後 抗스트레스 關聯 Hormone 含量 變化에 대한 實驗의 考察, 東醫神經精神科學會誌, 4(1):121-134, 1993.
  27. Biozzi G., Stiffel, C., Mouton, D., Bouthiller, Y. and Decrusefound, C. : A Kinetic Study of Antibody Producing Cells in the Spleen of Mice Immunized Intravenously with sheep erythrocytes, *Immunology*, 14:7, 1968.
  28. Miller, T.E. et al : Immunopotential with BCGII, modulator of the response to sheep red blood cells, *J. Nat. Cancer Inst.*, 51:16669, 1973.
  29. Mitsuoaka, A. et al : Delayed hypersensitivity in mice induced by intravenous sensitization with sheep erythrocytes : evidence for tuberculin type delayed hypersensitivity of the reaction, *Immunology*, 34: 363, 1987.
  30. Avrameas, L., Bach, J.F. and Preudhomme, J.L. : Antibody formation at the cellular level in immunology, John Wiley & Sons In C., New York, pp.508-513, 1982.
  31. Bach, J.F., Dardenne M. : Antigen Recognition by T Lymphocytes, *Cellular Immunology*. Vol 3, pp.1-10, 1972.
  32. Davis, A.J.S. et al : The failure of thymus-derived cells to produce antibody Transplantation, 5:222, 1967.
  33. Hume, D.A., Perry, V.H. and Gordon, S. : The mononuclear phagocyte system of the mouse defined by immunohistochemical localization of antigen F4/80. Macrophages associated with epithelia *Anat. Rec.*, 210:503, 1984.
  34. Hume, D.A., Loutit, J.F. and Gordon, S. : The mononuclear phagocyte system of the mouse defined by immunohistochemical localization of antigen F4/70. Macrophages of bone and associated connective tissue. *J. Cell. Sci.*, 66:189-194, 1984.
  35. Shepherd, V.L., Compbell, E.J., Senior, R.M. and Stahl, P.D. : Characterization of the mannose fucosyl receptor on human mononuclear phagocytes. *J. Res.*, 32:423-432, 1982.
  36. Suny, S.S.J., Nelson, R.S. and Silverstein, S.C. : Yeast mannose inhibits binding and phagocytosis of zymosan by mouse peritoneal macrophages. *J. Cell. Biol*, 106, 1983.
  37. Sells, S. : Immunology, immunopathology and immunity, Hagerstown, Maryland, Harper & Row pub., pp.114-171, 1980.
  38. 金完熙 : 韓醫學原論, 서울, 成輔社, pp.30-36, 79-97, 288-289, 1982.
  39. 文濬典·安圭錫·崔昇勳 共著 : 病理學, 서울, 高文社, pp.57-68, 132-137, 1990.
  40. 安圭錫 編著 : 동의병리학총론, 대구한과대학, pp. 88-93, 1984.
  41. 金相孝 : 東醫神經精神科學, 서울, 杏林出版, pp. 154-155, 277-284, p.336, 1984.
  42. Tecoma E.S., Huey L.Y. : Minireview psychic distress and the immune response, *Life Science*, 35:1799-1812, 1982.
  43. 김우호 : 면역학, 춘천, 강원대학교 출판부, pp.1-8, 1993.
  44. 이연태 역 : 최신면역학, 서울, 집문당, pp.382-384, 1982.
  45. Bishopric, N.J., Cohen, H.J., & Letkowitz, R.L. : Beta adrenergic receptors in lymphocyte

subpopulations, J. Allergy and Clinical Immunology, 65:29-33, 1980.

46. Fujiwara, R. and Orita, K. : The enhancement of the immune response by pain stimulation in mice. I. The enhancement effect on PFC production via sympathetic nervous system in vivo and vitro, J. Immunol. 138:3699, 1987.

47. Tanaka, T., Yokoo, H., Mizoguchi, K., Yoshida, M., Tsuda, A., and Tanaka, M. : Noradrenaline Release in the rat amygdala increased by stress : studies with intracerebral microdialysis, Braine Res., 544:174-176, 1991.

48. Plotnikoff, N.P., Murgu, A.J., Miller, G.C., Corder, C.N. and Faith, R.E. : Enkephalin : immunomodulators. Federation Proc, 44:118, 1985.

49. 李 槌 : 醫學入門, 서울, 한성사, p.488, 595, 1983.

50. 李尙仁 : 本草學, 서울, 修書院, p.56, 95, 146, 176, 369, 374, 375, 376, 394, 401, 419, 422, 423, 426, 538, 1981.

51. 金最壽 : 標準本草學, 서울, 進明出版社, pp.177-179, 427-429, 1975.

52. 辛民教 : 原色臨床本草學, 서울, 南山堂, pp.250-252, 385-387, 1986.

53. 申佶求 : 申氏本草學(各論), 서울, 壽文社, p.68, 69, 486, 487, 1981.

54. 上海中醫學院 : 中草藥學, 上海, 商務印書館, pp. 226-228, p.358,359, 1981.

55. 陳存仁 : 漢方醫藥大辭典(2卷), 東京, 講談社, pp.64-67, 208-211, 1982.

56. 趙洪建 : stress와 노이로제의 한방요법, 서울, 문학예술사, pp.12-34, 1987.

= ABSTRACT =

Effects of Gyogamdan Administration on the Stress-Induced Immunosuppression in the Mouse

Hyun-Soon Hwang,  
Young-Su Lyu

Dept. of Oriental Neuropsychiatry  
College of Oriental Medicine, Won Kwang University

This study was done to know the effects of the water extracts of *Gyogamdan*(GGD) on the function of macrophages, the most important cells of the innate immune system, and the rosette forming ability of splenocytes in the mouse under stress. The effects of GGD on the immunosuppression induced by noise stress are as follows.

1. Administration of GGD water extracts normalized the body weight which might be decreased by noise stress.
2. Administration of GGD water extracts increased the production of the such reactive oxygen intermediates as superoxide and hydrogen peroxide from macrophages in vivo & in vitro which were decreased by noise stress.
3. Administration of GGD water extracts did not affect the production of reactive nitrogen intermediates.
4. Administration of GGD water extracts increased the rosette forming ability of splenocytes which was decreased by noise stress.

The above effects of GGD might be useful for the treatment of stress-induced infections diseases which could be caused by the suppression of immune responses which are initiated by the functions of macrophages of the innate immune system.