

감초 추출물이 면역응답에 미치는 영향

심호기 · 박무희* · 최 청* · 배만중

경산대학교 생명자원과학부, *영남대학교 식품가공학과

Effect of *Glycyrrhiza glabra* Extracts on Immune Response

Ho-Ki Sim, Mu-Hee Park*, Chung Choi* and Man-Jong Bae

Dept. of Faculty of Bioresources Science, Kyungsan University, Kyungbook 712-240, Korea

*Dept. of Food Science and Technology, Yeungnam University, Kyungbook 712-749, Korea

Abstract

This study was conducted to investigate on immune response of the hot water extract (PHE), 50% methanol extract (PME) and acetone extract (PAE) from *Glycyrrhiza glabra*. The experiment was carried out by phagocytosis, plaque forming cell (PFC), hemolysin titration (HY) and rosette forming cell (RFC) assay by using BALB/c mice. The results obtained from this study are as follow; The effects of *Glycyrrhiza glabra* extracts on phagocytosis was tended to be slight increase in GME and GAE groups compared to the control group, but not significant. In the experiment of PFC and HY, the results of experiment groups which was given each samples were significantly higher than the control group. The result of rosette forming cell in GME and GAE groups were significantly higher than control group.

Key words: *Glycyrrhiza glabra*, phagocytic activity, rosette forming cell, plaque forming cell, hemolysin titration.

서 론

현대의 식생활 환경은 식품의 기호적인 면으로 인하여 과잉섭취나 편식 등으로 하여 여러 종류의 생체조절계, 즉 신경계, 세포분화계, 면역 및 생체 방어계의 이상을 초래할 수 있다. 이로 인하여 현대인들에게는 돌연변이 유발성 및 발암성, 식품 allergy 등과 같은 요인들로 성인병이 발생된다고 하였다¹⁻⁵⁾. 이러한 이유에서 건강상태의 유지 및 증진과 건강장애 예방을 위하여 생리 조절 기능이 부여된 기능성 식품은 건강에 대한 사회적 관심이 고조되는 상황에서 발생한 식품의 새로운 측면이라 할 수 있다⁶⁾.

감초는 한방의 대표적 약제로서 방제의 약 70% 이상이 첨가되어 오고 있고, 맛은 달고 평하며 쓴맛을 제어하고 모든 약을 화합시키는 성질이 있어 오래전부터 사용되어 온 중요한 생약⁷⁾일 뿐만 아니라 감초의 주요 성분인 glycyrrhizin은 비당질의 고감미에 속하는 천연감

미료로서 설탕의 250배의 감미를 가지고 있다. 또한 과자류, 음료, 조미료, 담배의 향 등에서도 이용되며, 항산화성을 가지고 있어서 식품성분의 산화를 방지하여 품질을 안정화시키는 작용도 있다고 보고되고 있다⁸⁻¹⁰⁾.

또한 의약품 분야에서는 glycyrrhizin을 중심으로 한 감초 성분에는 항염증 작용¹¹⁾, 항 allergy 작용¹²⁾에 효과적이라는 것이 알려져 있으며, 이 밖에도 항균 작용, 항종양 작용, 혈중 cholesterol 저하 작용이 있는 것으로 보고되고 있다. 최근에는 항 virus 작용이나 interferon 유기 작용 등이 보고되고 있고, 동시에 간염에서의 이용과 나아가서는 AIDS에 대한 효과 등도 관심의 대상이 되고 있다¹³⁻²¹⁾.

따라서, 본 연구에서는 감초로부터 열수 추출물, 50% methanol 추출물, acetone 추출물로 분리, 추출하여 이들이 면역 세포기능에 미치는 영향을 조사하기 위해서 탐식능 측정과 비장세포로부터 용혈반 형성세포 (plaque forming cell), rosette forming cell (RFC)

측정 및 말초혈액에 대한 용혈소가를 측정하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

1) 실험재료

실험재료로서 감초(*Glycyrrhiza glabra*)는 대구 약전 골목에서 구입한 것을 분쇄하여 사용하였다.

2) 실험동물

실험동물은 국립보건원에서 분양받은 8~12 주령의 BALB/C 용성 mouse를 사용했으며, 사육 기간 중 물과 사료(삼양유지)를 충분히 섭취하도록 하였다. 실험군은 대조군(이하; CON군)과 열수추출물(이하; HE군), 50% methanol 추출물(이하; ME군), acetone 추출물(이하; AE군) 투여 군으로 나누어 사육하였으며, 각 군은 1일 1회 0.2ml씩 경구 투여하였다.

2. 실험방법

1) 추출방법

추출방법은 Kumazawa 등²²⁾의 방법을 다소 변형하여, 감초로부터 분쇄한 시료 100g에 1ℓ의 증류수를 넣어 80~90℃에서 1시간 끓인 후, 이러한 조작을 3회 반복하여 여과한 것을 동결건조하여 열수 추출물로 사용하였다. 또한 50% 메탄올 추출물은 시료 100g에 50% 메탄올 500ml를 넣어 하룻밤 방치한 후 여과하여 동결건조하여 시료를 조제하였으며, 아세톤 추출물은 열수 추출액과 아세톤을 동량으로 혼합하여, 하룻밤 방치한 후, 불용성 물질만을 회수하고 투석한 것을 동결건조시켜 공시시료로 사용하였다.

2) 세포 세정액 및 배양액

세포 세정액으로서는 인산완충용액(phosphate buffered saline: PBS, pH 7.2)과 세포배양액인 RPMI 1640(Gibco Co.) 배지를 초순수 증류수에 용해한 후 NaHCO₃(2 g/L), penicillin(100 U/mL) 및 streptomycin(100 g/mL)을 첨가하여 pH 7.2~7.4로 조정된 것을 각각 0.45 μm filter(Corning Co.)로 여과 멸균하여 사용하였다.

3) 복강내 침출 세포 부유액

Mouse의 복강에 PBS를 주입하고 맛사지한 후, 채취한 복강 세포 부유액을 1,500rpm에서 10분간 원심분

리하여 상층액을 제거하고, RPMI 1640으로 1,500 rpm에서 10분간 3회 세척하여 세포수를 조정하였다.

4) 비장세포 부유액

Mouse의 복부를 절개하여 비장을 적출한 후, 분절시켜 세포 부유액을 만들어 1,500 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 제거하였다. 적혈구를 용해하기 위해서 0.83% ammonium chloride tris buffer(pH 7.2)로 처리한 다음 RPMI 1640으로 1,500 rpm에서 10분간 3회 세척하여 세포수를 조정하였다. 세포수 조정은 PEC와 비장세포를 trypan blue로 염색한 후, hemacytometer를 이용하여 생세포수를 측정하였다²³⁾.

5) 균주배양

*Candida parapsilosis*는 한국중균협회에서 분양받은 것을 계대배양하여 사용했으며, 계대배양기간은 1~2개월의 간격으로 Sabouraud's dextrose agar에 사면 배양하였고, 이 균주를 4℃에서 냉장 보관하였다. 실험 시에는 *C. parapsilosis*를 Sabouraud's dextrose broth에 접종하여 2일간 배양한 후, PBS로 2회 세척(1,500 rpm, 10 min)하여 사용하였으며, 세포수 조정은 RPMI 1640으로 균을 회석하여 methylen blue로 염색한 후, 검경 관찰하여 그 수를 측정하였다²⁴⁾.

6) 탐식능 측정

탐식능 측정은 추출된 각각의 약물을 7일간 경구 투여한 후 8일째에 복강과 비장에서 식세포를 채취하여 세포 부유액을 만들었다. 균주로는 *C. parapsilosis* 부유액(8×10^3 cells/ml) 50 μl와 여기에 식세포 부유액(8×10^4 cells/ml) 50 μl, 그리고 5% 동계 mouse 혈청 100 μl를 V-bottomed microtitre tray에 주입, 혼합하여 CO₂ incubator(37℃, 5% CO₂)에서 3시간 동안 배양하였다. 배양액 중 50 μl를 취해서 Sabouraud's dextrose agar에 옮기고, 35℃에서 2일간 배양하여 살아 있는 *C. parapsilosis*의 colony 수를 세어 식세포에 의해 탐식된 *C. parapsilosis*의 생균수를 표시하였다²⁵⁾.

7) 용혈반 형성세포의 측정

항체 생산세포의 검색은 Cunningham의 방법²⁶⁾에 따라 행하였으며, 추출된 각각의 약물 투여는 10일간 행하고 6일째에 SRBC를 1×10^9 cells/ml이 되게 조정하여 mouse의 복강에 0.2 ml 주사하였다. 4일 후 비장을 적출하고 세포 부유액으로 만들어 3회 세척하여 1×10^6 cells/ml이 되도록 조정된 비장세포 200 μl와 10% SRBC 36 μl, complement 21 μl 그리고 5%

FCS-Hanks balanced salt solution(HBSS) 143 μ l 를 혼합하여, Cunningham chamber에 넣어 37°C incubator에서 1시간 동안 배양하였다. 항체생산세포 주위에 적혈구가 용해된 투명한 용혈반(plaque)이 생성되면 이 때의 용혈반수를 세어 항체생산 세포수를 산정하였다.

8) 용혈소 역가측정

상기에서와 같이 면역유발과정을 통해서 CON군과 HE군, ME군 및 AE군에서 얻어진 항혈청을 Kolmer saline으로 2배 단계로 희석(1/10, 1/20~1/1280)하여 보체와 2% SRBC를 각각 0.25 ml 첨가하여 37°C에서 30분간 진탕 반응시켰다. 용혈소 판정은 100% 용혈법에 의한 육안 판정을 행하였으며, 판정 기준은 100% 완전 용혈이 일어난 상태까지를 기준으로 하였다²⁷⁾.

9) Rosette forming cell의 검출

비장세포의 Rosette 형성세포의 검사는 Method in Immunology²⁸⁾에서 기술한 방법에 따라 행하였다. 즉, Fig. 3에서와 같이 면역유발 과정을 통해서 얻은 비장세포 부유액(2×10^7 cells/ml) 200 μ l와 1% SRBC부유액 200 μ l를 시험관에 넣고 혼합하여 1,700 rpm에서 원심분리한 후, 이것을 다시 부유시켜 혈구계산반에 주입하여 RFC를 검정관찰하였으며, 다음 공식에 준하여 계산하였다.

$$\text{RFC per ml in rosette mixture / viability} \times 10 = \text{RFC} / 10^6 \text{ viable nucleated cells}$$

3. 통계분석

각 실험결과와 분석치는 평균치와 S.D.로 표시하였고, 유의성 검정은 Student's t-test로 행하였다.

결과 및 고찰

1. 탐식작용에 미치는 영향

*Candida*는 *Aspergillus*, *Actinomyces* 등과 같은 상재 비병원성 진균으로서 건강인에게는 병원성을 나타내지 않지만 신생아, 면역결핍증환자, 면역억제요법을 받은 사람, 백혈병이나 악성임파종의 환자 등 숙주측의 면역능 저하 또는 이상이 있는 경우나 당뇨병, 균교대현상의 결과에서 가끔 심한 감염을 초래하기도 한다.

그 중에서도 *Candida* 감염은 가장 자주 확인되고 구강점막외의 기관, 위장관 점막, 피부나 손톱, 발톱 등을 침범하고 나아가서는 폐를 침범하는 것으로 보고되고

있다²⁹⁾.

이러한 특징을 갖는 *Candida*에 대한 탐식능을 실험한 결과, mice의 복강에서 얻은 복강침출세포(PFC)의 탐식작용에서는 GHE 투여군(55.45 ± 6.73), GME 투여군(63.23 ± 8.67), GAE 투여군(52.51 ± 5.30)이 CON군(50.32 ± 4.22)에 비해 탐식작용이 다소 높은 경향을 보였으며, 그 중 GME 투여군이 가장 높은 효과를 나타내었지만 유의성은 인정되지 않았다.

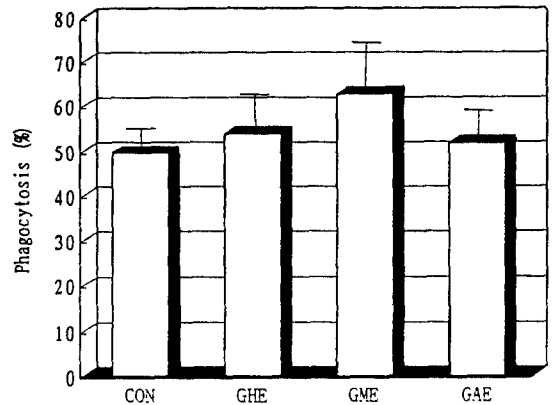


Fig. 1. Effect of *Glycyrrhiza glabra* extracts on phagocytic activity of peritoneal exudate cells. Extrats of *Glycyrrhiza glabra* was orally given to mice for 7 days and then phagocytic activity of peritoneal eudate cells was examinded. Values are means \pm S.D. of 5 mice.

CON : Control

GHE : *Glycyrrhiza glabra* hot water extract

GME : *Glycyrrhiza glabra* 50% methanol extract

GAE : *Glycyrrhiza glabra* acetone extract

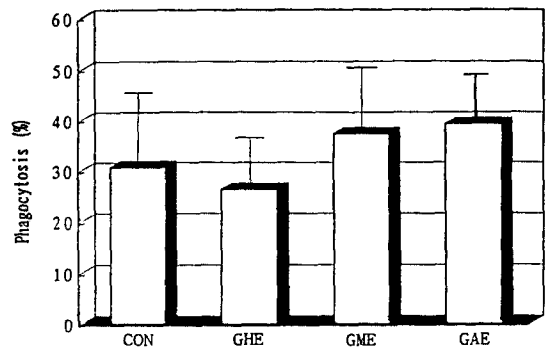


Fig. 2. Effect of *Glycyrrhiza glabra* extracts on phagocytic activity of spleen cells. Extrats of *Glycyrrhiza glabra* was orally given to mice for 7 days and then phagocytic activity of spleen cells was examinded.

Values are means \pm S.D. of 5 mice.

The symbols are the same in Fig. 1.

또한 비장을 적출하여 얻은 spleen cells의 *Candida parapsilosis*에 대한 탐식작용에서는 ME 투여군(38.35±13.10), AE투여군(40.32±19.77)이 CON군(31.74±14.20)에 비해 탐식효과가 약간 높은 경향을 나타내었지만 유의성은 인정되지 않았으며, HE투여군(27.56±10.14)에서는 탐식작용이 억제되고 있음을 보였다.

Johnson 등³⁰⁾과 John 등³¹⁾에 의하면 복강침출세포의 50~65%가 macrophage인 것으로 보고하고 있으며, 이러한 macrophage 세포는 병원체와 항원 등 외부에서 침입해 들어온 이물을 탐식하여 제거하고, 일부는 항원으로 림프구 표면에 제시되며, 림프구처럼 항원 특이성은 없는 비특이적인 면역기능을 갖는 세포군으로 알려지고 있다. 7일간 약물을 투여한 각각의 군이 대조군에 비하여 *Candida*에 대한 탐식능이 다소 높은 경향을 보인 것은 약물 투여군에서 얻은 복강에서의 macrophage가 비특이적인 면역기능을 더 갖는다는 것을 나타내 주는 것이라 하겠다.

또한 Masataka²⁵⁾ 등은 다당체의 주입이나 Bacillus Calmette Guerin(BCG)로 감염시킨 동물에서 얻어진 macrophage는 무투여군 보다도 *Candida*에 대한 탐식능이 더 뛰어났다는 보고와 같이 본 실험에서의 GAE 추출물 투여군이 대조군에 비해 탐식능이 다소 높은 경향을 보인 것은 추출물에서 얻어진 다당체 때문인 것으로 생각된다.

2. 용혈반 형성에 미치는 효과

감초 추출물이 용혈반 형성에 미치는 영향에 대한 결과는 Fig. 3에서 보는 바와 같이, CON군(164.17±39.15)에 비하여 GHE(248.05±50.24), GME(223.3±28.1), GAE 투여군(298.65±91.70) 모두에서 유의성이 인정되는($P < 0.05$) 결과를 나타내었으며, GAE 투여군이 가장 많은 항체 생성능을 갖는 것으로 나타났다.

이러한 결과는 한 등^{32,33)}이 감초엑기스(GR) 및 감초 주요성분인 glycyrrhizin과 그것의 가수분해물질인 glycyrrhetic acid의 용혈반 형성 실험에서 감초엑기스(GR)가 10.0 mg/kg 이상의 고농도 투여군에서 유의하게 항체생성을 촉진시켰다는 보고에서 볼 때, 본 실험에서 투여한 감초에서의 메탄올 추출물(500 mg/kg) 및 아세톤 추출물(100 mg/kg) 투여군에서 항체생성이 높게 나타난 결과는 투여 농도와 관계되는 것으로 나타났다. 한 등^{32,33)}은 또한 감초의 주성분인 glycyrrhizin이 고농도에서 T-세포가 주도하는 세포성 면역을 억제시키고, B-세포에서의 항체생성능력을 고농도에서 증강시킨다는 결과는 감초의 면역조절작용이

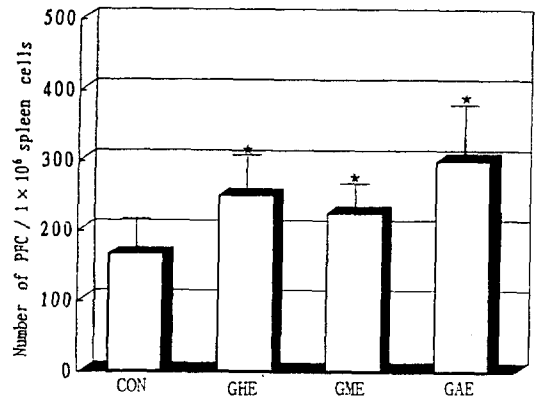


Fig. 3. Effect of *Glycyrrhiza glabra* extracts on hemolytic plaque assay. BALB/c mice were orally given extracts of *Glycyrrhiza glabra* for 10 days. The mice were immunized with 0.2ml SRBC (1×10^6 cells/ml) 4 days before assay.

Values are means ± S.D. of 5 mice.

Significantly different compared with the control group

* : $P < 0.05$

The symbols are the same in Fig. 1.

감초의 주요성분인 glycyrrhizin에 의한 것이라고 보고하였다. 이러한 결과에서 볼 때 감초 추출물들이 B-세포의 항체생성능력을 증강시켜 생성된 항체에 의해서 항원인 SRBC를 파괴하여 많은 용혈반을 형성한 것으로 추측된다.

3. 용혈소 역가측정

Table 2는 mouse에서 채취한 항혈청을 단계적으로 희석하여 보체 및 SRBC와 반응시켜 용혈소의 역가를 측정한 결과이다. CON군에 비해 GHE, GME, GAE 투여군이 높은 유의성을 나타냈다. 즉, CON군이 20배 희석액에서 용혈이 된 반면 GHE, GME, GAE 투여군은 각각 80, 160, 80배 희석액에서 용혈이 나타났다.

Inoue와 Nelson³⁴⁾는 guinea pig serum의 9번째 fraction이 보체의 hemolytic action에 필요하며 이 새로운 성분인 C3f는 C3e와 C3a사이인 hemolytic sequence에서 7번째로 작용하며, sheep erythrocytes의 표면에 비교적 안정한 중간 복합체를 형성한다고 보고하였다. 즉, 용혈반응이 일어나기 위해서는 항원, 보체, 혈구(2%)와 용혈소가 가해짐으로서 검출하려는 어떤 항체의 역가를 알 수 있으며, 본 실험에서 사용한 감초 추출물 투여군 모두에서 작용의 차이는 있으나 항체의 역가가 높은 것으로 나타났다.

Table 1. Effect of *Glycyrrhiza glabra* extracts on the hemolysin titer in BALB/c mice

Group	Hemolysin titer (1+log2)
CON	2.25±0.43
GHE	3.75±0.43**
GME	4.75±0.43***
GAE	3.75±0.43**

Values are mean ± S.D. of 5 mice.

Significantly different from the control group.

** : P<0.01, *** : P<0.001

CON, GHE, GME and GAE are the same as described in Fig 1.

Table 2. Effect of *Glycyrrhiza glabra* extracts on the rosette forming cell in BALB/c mice

Group	RFC /10 ⁶ spleen cell
CON	21.3±4.6
GHE	25.5±7.2
GME	45.5±4.1***
GAE	55.8±10.7**

Values are mean ± S.D. of 5 mice.

Significantly different from the control group.

** : P<0.01, *** : P<0.001

CON, GHE, GME and GAE are the same as described in Fig 1.

4. Rosette형성에 미치는 효과

Table 2은 비장세포에 대한 rosette 형성을 나타낸 결과이다. 즉, CON군은 비장세포 10⁶당 21.3±4.6개의 rosette를 형성하는데 비해서 GME, GAE 투여군은 각각 45.5±4.1, 55.8±10.7로, GME 투여군이 가장 높은 유의성(P<0.001)을 나타냈으나, GHE 투여군은 25.5±7.2로 미미한 증가 경향을 보였다.

사람의 림프구를 결정하는 방법으로 T-림프구에 관하여서는 4℃에서 면양 적혈구와의 자연적 rosette형성 방법이 가장 널리 이용되고 있으며, Wybran과 Minowata^{35,36} 등은 말초 혈액 중의 림프구 중 면양의 적혈구와 작용하여 rosette를 형성할 수 있는 능력이 있는 림프구가 T-림프구라고 발표하였다. 본 실험의 결과, 감초의 GME, GAE 추출물이 세포성 면역을 담당하고 있는 T-세포를 자극하고 T-세포의 활성화에 관여하여 면역증강 작용을 나타낸 것이라 사료된다.

요 약

감초에서 분리한 각각의 추출물(GHE, GME, GAE)을 BALB/c mice에 투여하여 탐식작용, 용혈 반형

성, 용혈소 역가 측정 및 rosette 형성 실험을 통해 감초가 면역응답에 미치는 영향을 조사하였다.

1. 탐식능 측정에서 복강침출세포(PEC)와 비장세포(spleen cells)는 CON군에 비하여 각각의 약물 투여군이 *Candida parapsilosis*에 대한 효과가 다소 높은 경향을 나타내었지만, 유의성은 없었다.
2. 용혈반 형성 및 용혈소 역가측정에서는 CON군에 비하여 GHE, GME 투여군 및 GAE 투여군이 높게 나타났다.
3. Rosette형성에 대한 측정에서는 CON군에 비하여 GME, GAE 투여군이 높은 유의성을 나타내었다.

참고문헌

1. 南部征喜 : 動脈硬化の食事療法. 營養學會誌, 47(2), 63 (1989).
2. 塚本祐壯 : 食生活と花粉症(アレルギーの體質). 藥局, 42 (4), 483 (1991).
3. 박진순, 천종희 : 저지방식사와 포화 지방식이가 BALB/c 마우스의 면역기능에 미치는 영향. 韓國營養學會誌, 26(5), 578 (1993).
4. 入村敏志, 上野川修一 : 食品アレルギーとその抑制. 化學と生物, 29(10), 971 (1991).
5. 신은희, 이승철, 김희섭, 이상일 : 영유아기 식이가 알레르기질환 발생에 미치는 영향. 韓國營養學會誌, 22(2), 84 (1989).
6. 編集部 : 健康食品の市場動向と素材研究. 食品と開發, 29(3), 28 (1994).
7. 李永宇, 建舜洙 : 藥物配合에 따른 甘草의 主治作用 變化에 대한 考察. 方劑學會誌, 2(1), 59 (1991).
8. 한숙원 : 대두유에 대한 감초 acetone추출물의 항산화 효과에 관한 연구, 숙명여자대학교 석사학위논문 (1982).
9. Doi, S. : クリチルチン(甘草)の應用. 甘味料總覽, 高甘味度品からオゴ糖まで, 食品化學新聞社, 206
10. Kitagawa, I., Sakagami, M., Hashiuchi, F., Yoshikawa, M., Jiali, R. : Saponin and saponin. XLIX. on the constituents of the roots of *Glycyrrhiza inflata* BATALIN from Xinjiang, China, characterization of two sweet oleanane-type triterpene oligoglycosides, apioglycyrrhizin and araboglycyrrhizin : *Chem. Pharm. Bull.*, 4(8), 1350 (1993).
11. Finney, R.S.H. and Somers, G.F. : The anti-inflammatory activity of glycyrrhetic acid and derivatives. *J. of Pharmacy and Pharmacology*, 10, 613 (1958).
12. 畔武雄 : Prednisolon及び Glycyrrhizinの實驗的アレルギー性腦脊髓炎のPassive Transper에及ぼす影響. アレルギー, 15(2), 67 (1996).
13. 신동화, 한지숙, 김문숙 : 방기 및 감초의 에탄올 추출물의 *Listeria monocytogenes*의 증식 억제에 미치는 영향. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 26(5), 627 (1994).
14. Nishino, H., Yoshioka, K., Iwashima, A., Takizawa, H., Konishi, S., Okamoto, H., Okabe, H., Shibata, S., Fujiki, H. and Sugimura, T. : Glycyrrhetic acid inhibits tumor-promoting activity of teleocidin and

- 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in two-stage mouse skin carcinogenesis. *J. Cancer Res.*, **77**, 33 (1986).
15. Yamoto, M. : 칸초우의 생리화학 (2) 칸초우와 지방代謝, 代謝, (10) 臨時增刊號 和漢藥 646(1973)
 16. Pompei, R., Flore, O., Marccialis, M.A., Pani, A. and Loddo, B.: Glycyrrhizic acid inhibits virus growth and inactivates virus particles. *Nature*, **281** (25), 689 (1979).
 17. Abe, N., Ebina, T. and Ishida, M., : Interferon induction by glycyrrhizin and glycyrrhetic acid in mice. *Microbiol Immunol.*, **26**(6), 535 (1982).
 18. Fujisawa, K., Watanabe, Y., Kimura, K.: Therapeutic approach to chronic active hepatitis with glycyrrhizin., *Asian Med. J.*, **23**(10), 745 (1980).
 19. Ito, M., Nakashima, H., Bada, M., Pauwels, R., Clerc, E. D. Shigeta, S. and Yamamoto N. : Inhibitory effect of glycyrrhizin on the *in vitro* infectivity and cytopathic activity of the human immunodeficiency virus [HIV(HTLV-III /LAV)]. *Antiviral Research*, **7**, 1277 (1987).
 20. Hattori, T., Ikematsu, S., A., Matsushita, S., Maeda, Y., Hada, M., Fujimaki, K. : Preliminary evidence for inhibitory effect of glycyrrhizin on HIV replication in patients with AIDS. *Aantiviral Research*, **11**, 255 (1989).
 21. Yamasaki, K., Otake, T., Haruyo, M., Noboru, U., Yoshiko K., Kyoko S., and Yuge, T. : 生薬流出物のヒト免疫不全ウイルス(HIV)抑制スタアリング試験. *藥學雜誌*, **133**(11), 818 (1993).
 22. Kumazzawa, Y., Mizunoe, K. & Y. : Immunostimulating polysaccharide separated from hot water extract of *Angelica acutiloba* Kitagawa(Yamato Tohki). *Immunology*, **47**, 75 (1982).
 23. Garvey, J. S. : Method In Immunology, W.A. Benjamin, Inc. 445(1980)
 24. Sasada, M., Johnston, J. R.B. : Macrophage microbicidal activity. *J. Exp. Med.*, **152**, 85 (1980).
 25. Lehrer, R. I. and Cline, M. J. : Interaction of *Candida albicans* with human leukocytes and serum. *J. of Bacteriology*, **98**(3), 996 (1969).
 26. Cunningham, A. J. and Szenberg, A. : Further improvements in the plaque technique for detecting single antibody-forming cells. *Immunology*, **14**, 599 (1968).
 27. 西岡久壽彌, 眞崎知生 : 役にたつ免疫實驗法. 講談社, P. 91
 28. Garvey, J. S. : Method In Immunology., W.A. Benjamin Inc. P. 449 (1994).
 29. 서순봉, 김기홍, 박용준 : 진단학, 대학서림, P. 67 (1994).
 30. Johnson, W.J., Marino, P.A., Schreiber, R.D. and Adams, D.O. : Sequential activation of murine mononuclear phagocytes for tumor cytotoxicity : Differential expression of markers by macrophages in the several stages of development. *The Journal of Immunology*, **131**(2), 1038 (1993).
 31. John, B. H. J., Read R. T., Harold, C., J., Weinberg, J. B. : Macrophage tumor killing : Influence of the local environment : *Science*, **197**(15), 279 (1977).
 32. 한종현, 오찬호, 은재순 : 감초가 면역반응에 미치는 영향 (1). *약학회지*, **35**(3), 154 (1991).
 33. 한종현, 오찬호, 은재순 : 감초가 면역반응에 미치는 영향 (2). *약학회지*, **35**(3), 174 (1991).
 34. Inoue, K. and Nelson, R. A. J. : The isolation and characterization of a ninth component of hemolytic complement, C'3f. *The Journal of Immunology*, **96**(3), 386 (1966).
 35. Minowata, T., and Moore, G.E. : Brief communication : Rosette forming human lymphoid cell Lines. I. Establishment and evidence for origin of thymus-derived lymphocytes. *J. Nat. Cancer Inst.*, **49**, 891 (1972).
 36. Wybran, J., Carr, M.C., and Fudenberg, H.H. : The human rosette forming cell as a marker of a population of thymus-derived cells, *J. Clin. Invest.*, **51**, 2537 (1972).

(1997년 10월 22일 접수)