

蒼耳草의 藥用部位別 추출물이 抗感炎 및 抗腫瘍 免疫反應에 미치는 영향

조 남 준 · 송 호 준 · 신 민 교*

ABSTRACT

Effects of Herba, Radix, Fructus-xanthii Extract on the Immunities against infectious Diseases and Tumors

Cho Nam Zoon · Song Ho Joon · Shin Min Kyo*
*Dept. of Oriental Medicine of Wonkwang University

Herba Xanthii(HX), *Radix Xanthii(RX)* and *Fructus Xanthii(FX)* is one of the oriental medicine that has been used for the treatment of such infectious diseases and tumors. However, the mechanism of the drug is not investigated much. This study was done to know the effects of *HX*, *RX* and *FX* extract on the such innate immunities as phagocytic function and reactive radical formations from phagocytes and the such acquired immunities as humoral and cell-mediated immunities.

The followings are the results obtained from this study :

1. *HX2* and *FX1* groups increases the *in vivo* phagocytic activity of mononuclear phagocytes.
2. *HXB*, *RXB*, *RXC*, *FXB* and *FXC* groups increase the *in vitro* phagocytic activities.
3. *RXB* group stimulated the macrophages to produce nitric oxide in the presence of interferon- γ (IFN- γ).

* 원광대학교 한의과대학

4. *HX* and *RX* whole groups increased the luminol-amplified reactive oxygen intermediate production *in vivo*.
5. *HX* whole and *RX1*, *FX2* groups increased the lucigenin-amplified reactive oxygen intermediate production *in vivo*.
6. *HXC* group only increased the luminol-amplified reactive oxygen intermediate production *in vitro*.
7. *HXB*, *FXB* and *FXC* groups increased the lucigenin-amplified reactive oxygen intermediate production *in vitro*.
8. *HX2*, *RX1* and *FX* whole groups increased the hemolysin formations from B cells.
9. *HX*, *RX* and *FX* whole groups significantly increased the rosette forming cells from the spleen.
10. *HX*, *RX* and *FX* whole groups significantly decreased the delayed-type hypersensitivity measured by footpad swelling.

The above results demonstrate that *HX*, *RX* and *FX* has enhancing effects on innate immunity selectively and decreasing effects on delayed-type hypersensitivity of cell-mediated immunity according to medicinal part and diluted condition. This immunomodulating effects of *HX*, *RX* and *FX* might be responsible for the treatment of immune-mediated disorders.

Key Word : *Xanthium strumarium*, *Xanthium sibiricum*, Immunities against infectious Diseases, Tumors, Herba Xanthii, Radix Xanthii, Fructus Xanthii

I. 緒 論

蒼耳草 *Xanthium strumarium* L.(=*X. sibiricum* PATR. ex WIDD)는 菊花科 Compositae에 속한 一年生 草本 植物로 우리 나라 全域의 人家 近處, 路邊 등에 흔하게 自生하고 있으며 全草, 뿌리, 열매를 모두 藥用으로 사용하고 있다.

이 植物은 「神農本草經」⁴⁷⁾에 『蒼耳實味甘溫 主風寒頭痛 風濕周痺 四肢拘攣痛 惡肉死肌 久服益氣 耳目聰明 強志輕身 一名胡萋 一名地葵 生川谷』이라고 收載된 것이 文獻的 嚆矢이며 그 후 現今에 이르기까지 頻用되고 있음을 알

수 있었다.

藥用部位에 따라 全草인 蒼耳草는 苦辛·微寒^{3,4,120,26,37,43,53,92)}·有小毒^{20,26, 37)}으로 祛風散熱^{3,6,30,33,39)}·解毒殺蟲^{3,6,33,39)} 작용, 뿌리인 蒼耳根은 苦辛溫^{2,99, 107)}·有小毒⁹⁵⁾하여 驅風⁵²⁾·解毒⁵²⁾·消炎⁵²⁾ 작용, 열매인 蒼耳子 또는 蒼耳實은 甘苦辛溫^{43,70,84,92)}·有小毒^{16,20,23,29,30,34,37,41,43,50,53,59,61,66,69-73,84,92,93,96-101,107,111,114-116)}으로 散風^{1,3,5,7,9,18,29,40-42,47, 52,57,74,76,86)}·止痛^{1-3,9,15,18,27,32,52,53,55,58,59,68,78,79,95)}·祛濕^{1,3,5, 9,41,42,47,53,57,74,76)}·殺蟲^{7,47,53,71,79)} 작용으로 조금씩 다르게 나타났다.

蒼耳草에 대한 成分으로 全草에 Strumaroside, Xanthinine, Xanthum, Xanthu-

min, Xanthatin, Alkaloid,揮發油 등이,蒼耳根에는 Glucose를,蒼耳子에는 Xanthostrumarin, Alkaloid, Xanthanol, Vitamin, 脂肪油,蛋白質 등을 함유하고 있다고 調査^{2,3,5,10,18,19,24,23,33-36,39,43,49,50,54,61,81,83,87,88,92,96,99,111,115,116,117, 119)}되었다.

또한 藥理 작용에 대하여는 蒼耳草는 中樞神經抑制^{5,61)}·血壓降下⁶¹⁾·多種의 真菌抑制 작용⁶¹⁾ 등이,蒼耳根에는 抗癌 작용^{5,35,116)}이,蒼耳子인 境遇 血糖降下^{23,53,61,62,71,76,83,97,117)}·血壓降下^{61,115)}·鎮咳 작용^{61,115)} 및 肺炎球菌에 대하여 抑制 작용^{61,99,115)}이있는 것으로 나타났다.

이에 著者는 東醫 臨床에 頻用되고 있는 蒼耳草의 抗感染 및 抗腫瘍에 대한 效能을 藥用部位別로 究明하기 위하여 大食細胞의 貪食能, 反應窒素中間物質(RNI) 및 反應酸素中間物質(ROI) 生成能, 綿羊赤血球(SRBC)에 대한 凝集素價 및 溶血素價, Rosette形成細胞, SRBC에 대한 遲延型 足浮腫 反應을 實驗한 바 有意性있는 結果를 얻었기에 이에 報告 하는 바이다.

II. 實驗 材料 및 方法

1. 材料

1) 動物

8-10週 사이의 Balb/C 생쥐와 C57BL/6 생쥐(圓光大學校·韓醫科大學 實驗動物飼育室)를 cage(18×20cm)當 6個體의 密度를 維持하였으며, 2週日間 室溫에서 물과 飼料(제일사료주식회사)를 充分히 供給하고, 낮과 밤의 週期를 12時間씩 調節하면서 가능한 한 스트레스를 받지 않도록 飼育한 다음 이 實驗에 사용하였다.

2) 藥材

本 實驗에서 사용한 蒼耳草 *Xanthium strumarium* L.의 全草(*Herba Xanthii ; HX*)는

1994年 8月 10日에, 뿌리(*Radix Xanthii ; RX*)와 열매(*Fructus Xanthii ; FX*)는 1994年 10月 5日에 全北 益山에서 採取한 것을 精選한 후 細切하여 사용하였다.

3) 抗原^{125,132,133)}

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 飼育하고 있는 綿羊의 頸靜脈으로부터 採血한 후 同量의 Alsever 氏液(pH 6.1)을 加하여 4℃에서 保管하면서 4주 以內에 사용하였으며 保管 中인 綿羊赤血球를 사용할 때는 사용 直前に 滅菌한 PBS(Phosphate Buffered Saline, pH7.2)로 2-3回 洗滌하여 1x10⁸ cell의 濃度로 滴定한 후 사용하였다.

2. 方法

1) 檢液의 調製

上記한 蒼耳草의 全草, 뿌리, 열매를 各各 成人 分量 30g/60kg(1回)을 基準으로 하여 10回分인 300g씩을 5000ml round flask에 넣고 蒸溜水 3000ml를 加하여 100℃로 4時間 동안 重湯한 후 濾過布로 濾過하였으며, 濾過液을 1000rpm에서 20分間 遠心分離하여 얻은 上清液을 다시 200ml가 되도록 濃縮하여 檢液으로 만들었다.

2) 檢液의 投與

(1) 生體內 實驗

各各의 檢液投與群에서는 檢液을 생쥐 1마리當 蒼耳草 1群(HX1, RX1, FX1)은 上記 檢液을 10倍 稀釋하였으며, 蒼耳草 2群(HX2, RX2, FX2)은 上記 檢液을, 蒼耳草 3群(HX3, RX3, FX3)은 上記 檢液을 10倍 濃縮하여 0.5ml씩 1日 1回 14日 동안 經口 投與 하였으며, 對照群은 同量의 生理食鹽水(0.85% NaCl)를 同一 方法으로 投與하였다.

(2) 生體外 實驗

正常 마우스의 大食細胞를 分離한 후 A 群(HXA, RXA, FXA)은 上記 檢液을, B 群(HXB, RXB, FXB)은 上記 檢液을 10倍 稀釋하였고, C 群(HXC, RXC, FXC)은 上記 檢液을 100倍 稀釋하여 分離된 大食細胞에 處理한 후 6時間 培養하였다.

3) 大食細胞의 貪食能

測定^{124, 126, 130, 131, 134-139)}

(1) 大食細胞의 誘導 및 分離

檢液 投與 14日된 實驗群 생쥐의 上皮를 切開한 후에 腹腔에 滅菌된 HBSS(Ca²⁺, Mg²⁺ -free) 5ml를 注射하여 Pasteur pipette으로 腹腔內의 大食細胞를 分離하였다. 分離된 大食細胞는 HBSS로 3回 洗滌한 후 貪食能 分析에 사용하였다.

(2) 大食細胞의 貪食能 分析

大食細胞의 貪食能 測定은 FITC로 라벨된 polystyrene latex particle (1.88 μ m, Polysciences, Warrington)을 사용하였다. 5% fetal bovine serum이 添加되어 있는 RPMI 1640 medium에 1x10⁶個의 大食細胞와 5x10⁷個의 fluorescent latex particle 50 μ l를 添加한 후 95% O₂ 와 5% CO₂ 및 濕氣가 充分한 培養器에 45分間 37°C에서 培養하였다. 培養 후 2ml의 cold HBSS를 添加한 후 400g로 10分間 遠心分離하여 2回 反復 洗滌하였다. 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 測定하였다. 488nm로 發光된 argon-ion laser beam 200mw 出力에서 分析되었으며, 綠色螢光物質은 530nm의 band pass filter에서 選擇적으로 透過되어 感知되었다. 感知된 情報는 BDIS Consort 30 Computer Program에 의하여 百分率로 計算되었다. 大食細胞의 貪食能 測定은 다음 公式에 따랐다.

$$\text{Phagocytic Activity(\%)} = \frac{\text{TEO} - \text{TE45}}{\text{TEO}} \times 100$$

TEO = FITC로 라벨된 latex particle(5x10⁷)과 大食細胞(1x10⁶)를 0時間 培養 후 latex particle의 數.

TE45 = FITC로 라벨된 latex particle(5x10⁷)과 大食細胞(1x10⁶)를 45分間 培養 후 latex particle의 數.

4) 大食細胞의 反應窒素中間物質(Reactive Nitrogen Intermediate : RNI) 生成能의 測定¹²⁷⁻¹²⁹⁾

Reactive Nitrogen Intermediate (RNI)는 大食細胞 특히 생쥐의 腹腔內 大食細胞에서 γ -IFN(Boehringer Mannheim, Germany)이나 LPS(Sigma, U.S.A.) 또는 다른 微生物의 感染에 刺戟받아 L-arginine에 依存的으로 生成되며 이들이 特異的 또는 非特異的 免疫反應에 重要な 役割을 하는 것으로 알려져 있다.

RNI는 NO₂⁻, NO₃⁻, NO 등이 있는데 이들은 細胞培養液에 蓄積되기 때문에 蓄積된 RNI를 發色시켜 ELISA reader로 測定하였다.

Thioglycollate(TG)를 投與한 생쥐의 腹腔 大食細胞를 分離한 후 96 well plate에 well當 1-2x10⁵個로 넣어 주었다. γ -IFN 이나 LPS, 또는 RNI生成 阻害劑, 蒼耳草 檢液 2 μ l를 培養細胞에 添加하고 48時間 동안 培養한 후에 각 well로 부터 100 μ l씩의 培養液을 取하여 ELISA TiterTek plate에 옮긴 후 同量의 Griss Reagent(1:1, v/v, N-1-naphthylethylendiamine 0.1% in H₂O, sulfanilamide 1% in 5% H₃PO₄)를 添加하고 10分間 室溫에 두었다. 全體 RNI 生成 程度는 TiterTek Multiscan MCC/340 (Flow Lab)으로 540nm에서 吸光度를 測定했다. 이때 RNI濃도에 대한 標準曲線은 NaNO₂를 連續 稀釋하여 얻었다.

5) 大食細胞의 反應酸素中間物質(Reactive Oxygen Intermediate:ROI) 生成能의 測定¹³⁷⁻¹³⁹⁾

(1) 腹腔 大食細胞의 誘導

① 生體內 實驗

藥物이 投與된 마우스의 腹腔에 滅菌된 PBS(pH7.2)로 腹腔을 洗滌하여 腹腔 大食細胞가 充分한 peritoneal exudate cell(PEC)을 얻었다. PEC는 차가운 PBS로 400g에서 10分間 遠心分離하여 2회 洗滌한 후 veronal buffered saline (Ca^{2+} , Mg^{2+} , albumin, glucose 包含)에 5×10^6 cells/300 μ l가 되도록 滴定한 후 chemiluminescence(CL)를 測定하였다.

② 生體外 實驗

正常 마우스의 腹腔에 滅菌된 PBS(pH7.2)로 腹腔을 洗滌하여 腹腔 大食細胞가 充分한 peritoneal exudate cell(PEC)을 얻었다. 蒼耳草 檢液 10 μ l를 添加하여 6時間 培養 후에 細胞를 harvest하여 차가운 PBS로 400g에서 10分間 遠心分離하여 2회 洗滌한 후 veronal buffered saline (Ca^{2+} , Mg^{2+} , albumin, glucose 包含)에 5×10^6 cells/300 μ l가 되도록 滴定한 후 chemiluminescence(CL)를 測定하였다.

(2) Lucigenin에 의해 誘導된 CL의 測定

Veronal buffered saline을 利用해 5×10^6 cells/300 μ l로 滴定된 PEC 單細胞 浮遊液을 Luminometer(LB 9509, Berthold)內에서 37 $^{\circ}$ C로 15-30分 동안 preincubation시킨 후 O_2^- 를 測定할 수 있는 chemiluminogenic probe인 10mM의 lucigenin 10 μ l를 注入하고 安靜化 시킨 후 大食細胞를 刺戟시킬 수 있는 5.3 μ M phorbol myristate acetate(PMA) 10 μ l를 注入하고 37 $^{\circ}$ C 條件에서 約 60分間 CL를 測定했다.

(3) Luminol에 의해 誘導된 CL의 測定

Veronal buffered saline을 利用해 5×10^6 cells

/300ml로 滴定된 PEC 單細胞 浮遊液을 Luminometer(LB 9509, Berthold)內에서 37 $^{\circ}$ C로 15-30分 동안 preincubation시킨 후 H_2O_2 를 測定할 수 있는 chemiluminogenic probe인 10mM의 luminol 10 μ l를 注入하고 安靜化시킨 후 大食細胞를 刺戟시킬 수 있는 5.3 μ M phorbol myristate acetate(PMA) 10 μ l를 注入하고 37 $^{\circ}$ C 條件에서 約 60分間 CL를 測定했다.

6) 綿羊 赤血球에 대한 凝集素價 및 溶血素價 測定^{130,131,135)}

藥物 投與 14日째 모든 實驗群의 생쥐에 1×10^8 cell의 SRBC를 腹腔內로 注入하여 免疫하고, 免疫 후 8日에 眼球後靜脈으로 부터 Pasteur pipette을 利用하여 採血한 다음 凝集素價 및 溶血素價를 測定하였다.

凝集素價의 測定은 實驗群으로 부터 얻은 血清을 56 $^{\circ}$ C에서 30分 동안 加熱하여 補體作用을 除去한 후에 Microtitration Trays(Lymbro chemical co.)에 滅菌한 PBS를 25 μ l씩 連續 稀釋한 후 여기에 1×10^8 Cell의 SRBC를 50 μ l씩 各 分注시킨 후 37 $^{\circ}$ C에서 24時間 培養 후 凝集이 發生한 最少 濃度의 값으로 決定하였다.

溶血素價의 測定은 實驗群으로 부터 얻은 血清을 56 $^{\circ}$ C에서 30分 동안 加熱하여 補體作用을 除去한 후에 Microtitration Trays에 5% Rabbit complement (PBS 19:1 RC)를 25 μ l씩 分注한 다음 여기에 1×10^8 Cell의 SRBC를 各 分注하여 37 $^{\circ}$ C에서 1時間동안 培養한 후 血清이 發生한 最小 濃度의 값으로 決定하였다.

7) Rosette形成細胞 測定^{124-126,132,133)}

Rosette形成細胞(Rosette Forming Cell: RFC)의 測定은 Bach 등의 方法에 따라서 測定하였다. 單核細胞 浮遊液은 實驗群의 Balb/C 생쥐로부터 腹腔을 切開하여 脾臟(2個體 混合)을 摘出한 후 Ficoll-paque을 利用하여 400g로 遠心分

離시켜 얻었다. 이렇게 얻은 單核細胞 混合 浮遊液을 3×10^7 개의 細胞로 準備한 다음 附着細胞를 除去하기 위해서 滅菌된 注射器(2ml)에 glass wool을 體積하여 2ml의 細胞 浮遊液을 添加한 후 37°C 에서 30分 동안 培養하였다. 그 후 冷却된 15ml의 HBSS를 繼續해서 注射器에 注入하여 通過시켰다. 이와 같이 準備된 淋巴球를 1×10^6 細胞로 滴定한 후에 1×10^7 SRBC를 混合하여 37°C 에서 1時間 동안 培養하였다. Rosette形成細胞의 測定은 上記와 같이 培養된 細胞浮遊液을 4°C 暗冷狀態에서 12時間 以上 保管한 후 400倍 顯微鏡 視野에서 淋巴球 한 個當 3個 以上の SRBC가 附着된 것을 檢鏡하여 決定하였다.

8) 綿羊 赤血球에 대한 遲延型 足浮腫 反應¹⁹⁾

(1) 抗原

滅作抗原과 誘發抗原으로는 SRBC를 Hank's Balanced Salt Solution으로 水洗한 후 赤血球數를 調整하여 사용하였다.

(2) SRBC에 의한 足浮腫 測定

實驗群 생쥐 1마리 當 SRBC 2×10^5 cells /0.5ml를 尾靜脈에 注射하여 滅作시킨 후 4日째 생쥐 1 마리 當 SRBC 10^8 cells/0.5ml을 左足低에 皮下 注射하여 浮腫을 誘發시켰다. 誘發惹起前 및 24時間 후의 足低의 두께 借를 Dial thickness gauge를 사용하여 測定하였다.

III. 實驗 成績

1. 大食細胞의 貪食能에 미치는 影響

蒼耳草 煎湯液의 投與가 Balb/C 생쥐의 大食細胞 貪食能에 미치는 影響을 살펴보기 위하여, 14日間 檢液을 投與한 實驗群 생쥐에서 大食細胞를 分離한 후 FITC로 라벨된 polystyrene

latex particle($1.88\mu\text{m}$)과 같이 培養한 다음, 流式細胞 分離 分析器로 大食細胞가 latex particle을 貪食한 活性度를 測定하였다. 生體內의 境遇 對照群은 11.5 ± 1 의 活性度를 보였으며 이에 대하여 蒼耳草의 全草 投與群인 HX1,2,3群에서 各各 12.8 ± 0.4 , 31.5 ± 0.5 , 10.0 ± 0.4 이었고, 뿌리 投與群인 RX1, 2, 3群에서 16.7 ± 0.6 , 15.9 ± 0.5 , 11.2 ± 0.7 이었으며, 열매 投與群인 FX1, 2, 3群에서 各各 23.1 ± 0.4 , 12.5 ± 0.5 , 11.4 ± 0.4 로 HX2와 FX1群에서 有意性 있게 增加하였다(Fig.1).

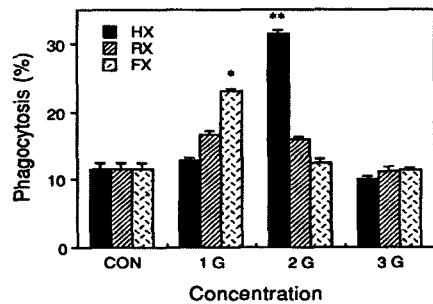


Fig. 1. *In vivo* effects of Herba Xanthii(HX), Radix Xanthii(RX), Fructus Xanthii (FX) administrations on the phagocytic activity. Increment of phagocytic activity was shown in two mouse groups(HX2, FX1). Percent phagocytic activity was calculated according to Consort 30 program of FACStar. Data show mean \pm S.E. * $P < 0.05$ compared with control.

CON:Normal Saline 0.5ml/day

HX1 Group ; HX : DW = 1 : 10, 0.5ml / day

RX2 Group ; RX : DW = 1 : 1, 0.5ml / day

HX2 Group ; HX : DW = 1 : 1, 0.5ml / day

RX3 Group ; RX : DW = 10 : 1, 0.5ml / day

HX3 Group ; HX : DW = 10 : 1, 0.5ml / day

FX1 Group ; FX : DW = 1 : 10, 0.5ml / day

RX1 Group ; RX : DW = 1 : 10, 0.5ml / day

FX3 Group ; FX : DW = 10 : 1, 0.5ml / day

生體外的 境遇 對照群은 15.5±1의 活性度를 보였으며 이에 대하여 蒼耳草의 全草 投與群인 HXA, B, C群에서 6.2 ± 0.5, 36.3 ± 0.7, 14.8 ± 0.7이었고, 뿌리 投與群인 RXA, B, C群에서 17.8 ± 0.6, 32.4 ± 0.8, 31.7 ± 0.6이었으며, 열매 投與群인 FXA, B, C群에서 5.6 ± 0.3, 34.0 ± 0.6, 35.6 ± 0.3으로 HXB와 RXB, C群 및 FXB, C群에서 有意性있게 增加하였다(Fig. 2).

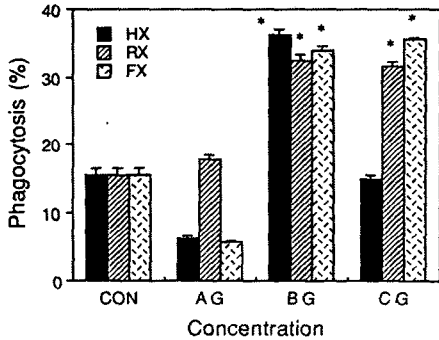


Fig. 2. *In vitro* effects of HX, RX and FX administrations on phagocytic activity. Thioglycolate-elicited macrophage were incubated with HX, RX and FX for 6 hours. The cells were harvested, centrifuged and measured for phagocytic activity. Increment of phagocytic activity was shown in five mouse groups(HXB, RXB, RXC, FXB and FXC). Percent phagocytic activity was calculated according to Consort 30 program of FACStar. Data show mean ± S.E. * P < 0.05 compared with control. The components of administered drug are the same Table 1.

2. 大食細胞의 反應窒素中間物質(Reactive Nitrogen Intermediate : RNI) 生成能에 미치는 影響

蒼耳草가 腹腔 大食細胞의 RNI 生成에 미치는 影響을 調査해 보기 위하여 培養中인 생쥐의 腹腔 大食細胞 (1×10^5 cell/200 μ l)에 蒼耳草를 各濃度에 따라 10 μ l/well씩 넣은 후 48時間 培養한 다음 RNI의 生成程度를 測定한 結果 對照群(4)에 比하여 蒼耳草의 全草와 열매 投與群에서는 別다른 差異를 보이지 않았지만 뿌리의 A, B, C群에서 各各 25±6, 67±4, 32±7로 增加하는 傾向을 보였으며 특히 RXB群에서 有意性있는 增加를 나타냈다(Table 1).

Table 1. Effects of HX, RX and FX on the production of nitrite by murine peritoneal macrophages.

Treatment	Nitrite Concentration(micromole/L)
NONE	4)
LPS	13±3
IFN- γ	22±4
IFN- γ +LPS	58±6
HXA	10±4
RXA	25±6
FXA	9±4
HXB	10±3
RXB	67±4
FXB	12±5
HXC	11±4
RXC	32±7
FXC	12±4

TG-elicited peritoneal macrophage(1×10^6 cells/ml) were incubated for 48hrs with various

concentration of HX, RX, FX, IFN- γ , LPS and IFN- γ plus LPS. NO₂ was measured spectrophotometrically as described in materials and methods. Values are expressed as micromoles of NO₂ per liter. Each point of the above data represents the means \pm S.E. of three experiments. The components of administered drug are as follows.

- HXA Group ; HX : DW = 1 : 1, 10 μ l / well
- RXC Group ; RX : DW = 1 : 100, 10 μ l / well
- HXB Group ; HX : DW = 1 : 10, 10 μ l / well
- FXA Group ; FX : DW = 1 : 1, 10 μ l / well
- HXC Group ; HX : DW = 1 : 100, 10 μ l / well
- FXB Group ; FX : DW = 1 : 10, 10 μ l / well
- RXA Group ; RX : DW = 1 : 1, 10 μ l / well
- FXC Group ; FX : DW = 1 : 100, 10 μ l / well
- RXB Group ; RX : DW = 1 : 10, 10 μ l / well

3. 大食細胞의 反應酸素中間物質 (Reactive Oxygen Intermediate : ROI)生成能에 미치는 影響

1) 生體內 實驗

蒼耳草 投與가 Balb/C 생쥐의 大食細胞에서 ROI 生成에 미치는 影響을 살펴보기 위하여, 蒼耳草를 14日間 投與한 생쥐의 腹腔 大食細胞를 分離한 다음 細胞 1 \times 10⁶cell/300 μ l에 lucigenin과 luminol을 各各 添加하여 chemiluminescence(CL)로 그 活性度를 測定하였던 바 Fig. 3,4와 같다. Fig. 3.에서는 luminol에 의해 誘導된 大食細胞의 活性度를 CMP \times 10⁶값으로 計算한 結果, 對照群은 0.19 \pm 0.2 \times 10⁶인데 比하여 蒼耳草 全草 投與群인 HX1, 2,3에서 7.5

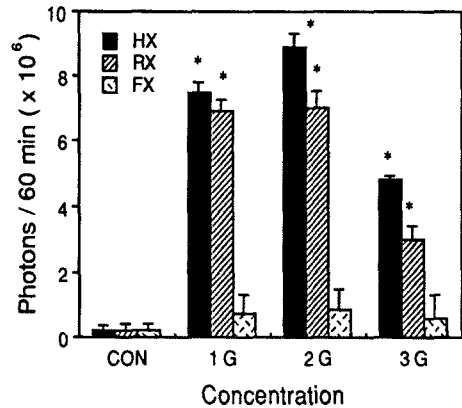


Fig. 3. *In vivo* effects of HX, RX and FX administrations on the hydrogen peroxide radical formation. Animals were given the drug orally for 14 days. Chemiluminogenic probe used was 10 mM of luminol (5-amino-2, 3-dihydro 1,4-phthalazinedione), which is amplifying hydrogen peroxide radicals. Murine peritoneal macrophages (1.5 \times 10⁶ cells/300 μ l) were stimulated by 5.3 μ M phorbol myristate acetate(PMA), and measurement of hydrogen peroxide radical was carried out in the chemiluminometer for 60 min. at 37 $^{\circ}$ C. The components of administered drug are the same as Fig. 1. Significant increment was shown in six mouse groups(HX1,2,3, RX1,2,3). Data show mean \pm S.E. * P < 0.05 compared with control.

$\pm 0.3 \times 10^6$, $8.9 \pm 0.4 \times 10^6$, $4.8 \pm 0.1 \times 10^6$ 이었고, 뿌리 投與群인 RX1, 2, 3에서 $6.9 \pm 0.4 \times 10^6$, $7.0 \pm 0.5 \times 10^6$, $3.0 \pm 0.4 \times 10^6$ 이었으며, 열매 投與群인 FX1, 2, 3에서 $0.71 \pm 0.6 \times 10^6$, $0.84 \pm 0.6 \times 10^6$, $0.59 \pm 0.7 \times 10^6$ 으로 蒼耳草의 全草와 뿌리에서만 뚜렷한 活性도를 보였다.

Fig. 4.에서는 lucigenin에 의해 誘導된 大食細胞의 活性도를 $\text{CMP} \times 10^6$ 값으로 計算한 結果, 對照群은 $1.3 \pm 0.4 \times 10^6$ 인데 比하여 蒼耳草 全草 投與群인 HX1, 2, 3에서 $7.3 \pm 0.3 \times 10^6$, $14.6 \pm 0.2 \times 10^6$, $10.5 \pm 0.3 \times 10^6$ 이었고, 뿌리 投與群인 RX1, 2, 3에서 $6.9 \pm 0.7 \times 10^6$, $3.0 \pm 0.7 \times 10^6$, $1.1 \pm 0.5 \times 10^6$ 이었으며, 열매 投與群인 FX1, 2, 3에서 $2.8 \pm 0.6 \times 10^6$, $4.8 \pm 0.3 \times 10^6$, $1.8 \pm 0.7 \times 10^6$ 으로 全草 1, 2, 3群과 뿌리 1群 및 열매 2群에서만 有意性있는 增加를 보였다.

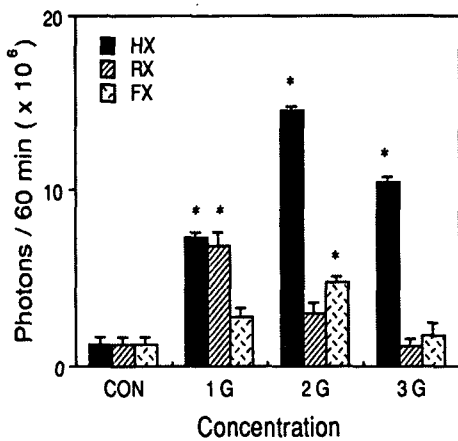


Fig. 4. *In vivo* effects of HX, RX and FX administrations on the superoxide

radical formation. Animals were given the drug orally for 14 days. Chemiluminescent probe used was 10mM of lucigenin (10, 10' dimethyl-9, 9-biacridinium:DBN²⁺), which is amplifying superoxide radicals. Murine peritoneal macrophages (1.5×10^6 cells/300 μ l) were stimulated by 5.3 μ M phorbol myristate acetate (PMA), and measurement of superoxide radical was carried out in the chemiluminometer for 60 min. at 37C. The components of administered drug are the same as Fig. 1. Significant increment was shown in five mouse groups (HX1,2,3, RX1, FX2). Data show mean \pm S.E. * P < 0.05 compared with control.

2) 生體外 實驗

生體外에서 蒼耳草의 影響을 알아보기 위하여 正常 생쥐로부터 腹腔 大食細胞를 分離한 후 蒼耳草를 濃度別로 稀釋하여 細胞에 直接 處理하였고 6時間 培養한 후 細胞를 收穫하여 上記와 같은 方法으로 測定하였다(Fig. 5,6).

luminol에 의해 誘導된 大食細胞의 活性도를 $\text{CMP} \times 10^6$ 값으로 計算한 結果, 對照群은 $0.19 \pm 0.2 \times 10^5$ 인데 比하여 全草 投與群인 HXA, B, C에서 $0.31 \pm 0.5 \times 10^6$, $0.37 \pm 0.8 \times 10^6$, $1.2 \pm 0.3 \times 10^6$ 이었고, 뿌리 投與群인 RXA, B, C에서 $0.16 \pm 0.3 \times 10^6$, $0.39 \pm 0.1 \times 10^6$, $0.48 \pm 0.5 \times 10^6$ 이었으며, 열매 投與群인 FXA, B, C에서 $0.32 \pm 0.2 \times 10^6$, $0.48 \pm 0.2 \times 10^6$, $0.42 \pm 0.2 \times 10^6$ 으로 全草 C群에서만 有意性있는 增加를 보였다(Fig.5).

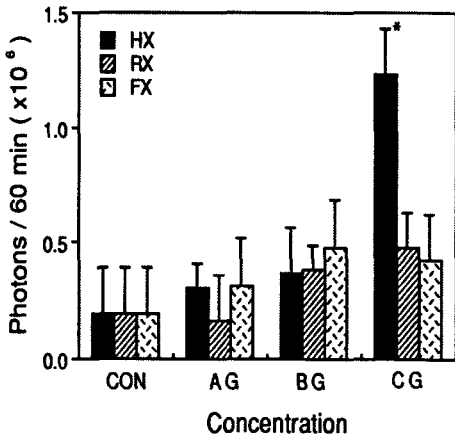


Fig. 5. *In vitro* effects of HX, RX and FX administrations on the hydrogen peroxide radical formation. TG-elicited macrophages were incubated with HX, RX and FX for 6 hours. The cells were harvested, centrifuged and measured for hydrogen peroxide formation. Chemiluminogenic probe used was 10mM of luminol (5-amino-2,3-dihydro 1,4-phthalazinedione), which is amplifying hydrogen peroxide radicals. The cells were stimulated by 5.3 μ M phorbol myristate acetate (PMA), and measurement of superoxide radical was carried out in the chemiluminometer for 60 min. at 37 $^{\circ}$ C. The components of administered drug are the same as Table 1. Significant increment was shown in one mouse groups(HXC). Data show mean \pm S.E. * P < 0.05 compared with control.

C에서 $2.89 \pm 0.2 \times 10^6$, $3.8 \pm 0.1 \times 10^6$, $1.4 \pm 0.1 \times 10^6$ 이었고, 뿌리 投與群인 RXA, B, C에서 $0.23 \pm 0.2 \times 10^6$, $1.9 \pm 0.3 \times 10^6$, $1.5 \pm 0.2 \times 10^6$ 이었으며, 열매 投與群인 FXA, B, C에서 $1.6 \pm 0.3 \times 10^6$, $7.9 \pm 0.1 \times 10^6$, $3.8 \pm 0.2 \times 10^6$ 으로 全草 B群과 열매 B, C群에서만 有意性있는 活性도를 보였다(Fig. 6).

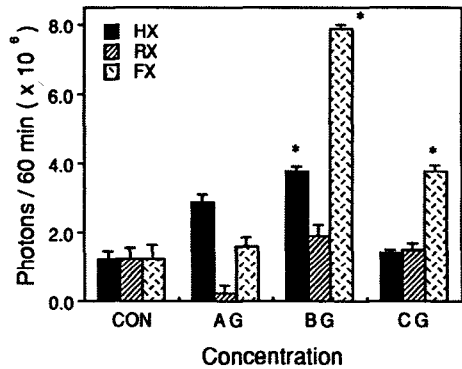


Fig. 6. *In vitro* effects of HX, RX and FX administrations on the superoxide radical formation. TG-elicited macrophages were incubated with HX, RX and FX for 6 hours. The cells were harvested, centrifuged and measured for superoxide formation. Chemiluminogenic probe used was 10mM of lucigenin (10,10' dimethyl-9,9-biacridinium:DBN2⁺), which is amplifying superoxide radicals. The cells were stimulated by 5.3 μ M phorbol myristate(PMA), and measurement of superoxide radical was carried out in the chemiluminometer for 60 min. at 37 $^{\circ}$ C. Increment was shown in three mouse groups(HXB, FXB,C). The components of administered drugs are the same as Table 1. Data show mean \pm S.E. compared with control.

lucigenin에 의해 誘導된 大食細胞의 活性도를 CMP값으로 計算한 結果 對照群은 $1.3 \pm 0.4 \times 10^6$ 인데 比하여, 全草 投與群인 HXA, B,

4. 綿羊赤血球에 대한 凝集素價 및 溶血素價에 미치는 影響

Balb/c 생쥐에 있어서 蒼耳草 投與가 綿羊赤血球에 대한 抗體生成能에 미치는 影響을 알아보기 위하여 綿羊赤血球에 대한 凝集素價와 溶血素價를 測定하여 log 2값으로 計算하였던 바 Fig. 7 및 Fig. 8 과 같았다.

凝集素價는 對照群이 6.7±1.2인데 比하여 全草 投與群인 HX1, 2, 3群에서 4.4 ± 0.7, 6.4 ± 0.9, 8.3 ± 0.6이었고, 뿌리 投與群인 RX1, 2, 3群에서 6.6 ± 1.1, 7.4 ± 0.9, 6.8±0.7이었으며, 열매 投與群인 FX1, 2, 3群에서 5.4 ± 0.6, 6.9 ± 0.8, 6.9 ± 0.9로 나타나 有意性은 認定할 수 없었다(Fig. 7).

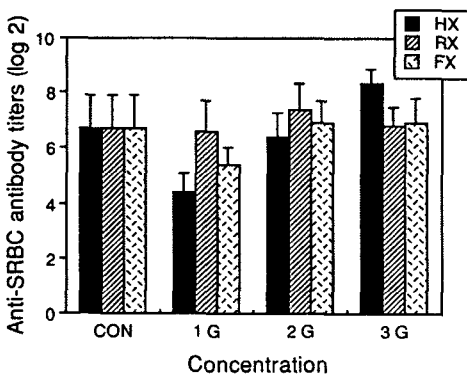


Fig. 7. Effects of HX, RX and FX administrations on the hemagglutinin titers. Animals were given orally HX, RX and FX for 15 days before sensitization. Animals were sensitized with SRBC on day 0 and hemagglutinin titers were measured on day 8. The components of administered drugs are the same as Fig. 1. Specific increment was not investigated. Data show mean ± S.E. * P < 0.05 compared with control.

溶血素價는 對照群이 4.3 ± 0.7이며 이에 대하여 全草 投與群인 HX1, 2, 3群에서 3.3 ± 1.0, 6.3 ± 0.4, 5.3 ± 0.8이었고, 뿌리 投與群인 RX1, 2, 3群에서 5.9 ± 1.2, 5.5 ± 1.3, 4.7 ± 0.9이었으며, 열매 投與群인 FX1, 2, 3群에서 6.4 ± 0.7, 7.8 ± 0.9, 7.5 ± 0.5로 되어 全草의 境遇 2群에서만, 뿌리는 1群에서만, 그리고 열매는 모든 群에서 有意性있게 增加되었다(Fig.8).

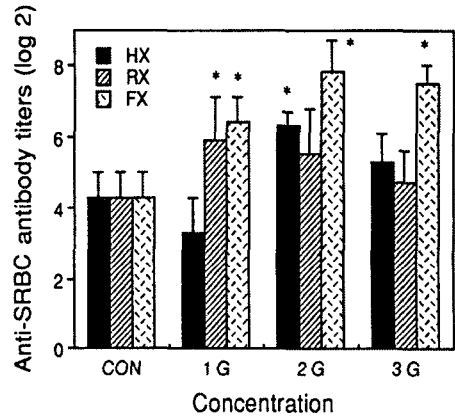


Fig. 8. Effects of HX, RX and FX administrations on the antibody formation against SRBC. Animals were given orally HX, RX and FX for 15 days before sensitization. Animals were sensitized with SRBC on day 0 and hemolysin titers are measured on day 8. The components of administered drugs are the same as Fig. 1. Increment was shown in five mouse group (HX2, RX1, FX1,2,3). Data show mean ± S.E. * P < 0.05 compared with control.

5. Rosette 形成細胞에 미치는 影響

Balb/C 생쥐에 있어서 蒼耳草 投與가 綿羊赤血球에 대한 免疫反應細胞數를 比較하기 위해, 생쥐로부터 脾臟을 摘出하여 rosette 形成細胞數를 測定하였던 바 Fig. 9와 같았다.

對照群의 10^6 脾臟細胞當 10^3 RFC의 數는 對照群이 6.4 ± 0.7 인데 비해, 全草 投與群인 HX1, 2, 3群에서 10.3 ± 0.6 , 12.9 ± 0.9 , 12.3 ± 0.8 이었고, 뿌리 投與群인 RX1, 2, 3群에서 9.9 ± 0.7 , 9.7 ± 0.5 , 10.0 ± 0.7 이었으며, 열매 投與群인 FX1, 2, 3群에서 10.5 ± 0.5 , 15.2 ± 0.5 , 13.4 ± 0.9 로 蒼耳草의 全草, 뿌리, 열매 모든 群에서 有意性있게 增加하였다 (Fig. 9).

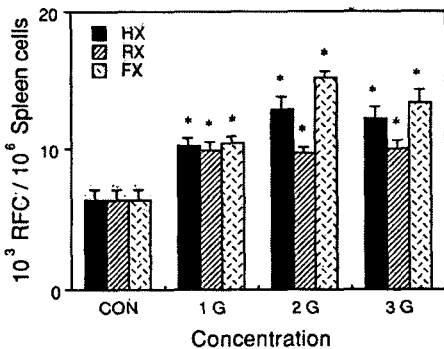


Fig. 9. Effects of HX, RX and FX administrations on the appearance of rosette forming cells (RFC) in mice. Mice were immunized with SRBC and spleen cells were assayed for RFC at 8 days after immunization. Animals were given orally HX, RX and FX for 15 days before sensitization. The components of administered drugs are the same as Fig. 1. Increment was shown in all mouse groups. Data show mean \pm S.E. * $P < 0.05$ compared with control.

6. 綿羊 赤血球에 대한 遲延型 足浮腫反應 測定

Balb/C 생쥐에 있어서 蒼耳草 投與가 綿羊赤血球에 대한 足浮腫反應에 미치는 影響을 알아 보기 위하여 綿羊赤血球를 尾靜脈에 注射하여 減作시킨 후 左足低에 皮下 注射하여 測定한 結果 Fig. 10과 같았다. 對照群이 28 ± 1.0 인데 비해 全草 投與群인 HX1, 2, 3群에서 3 ± 0.5 , 10 ± 0.7 , 20 ± 0.3 이었고, 뿌리 投與群인 RX1, 2, 3群에서 17 ± 1.1 , 20 ± 0.9 , 20 ± 0.8 이었으며, 열매 投與群인 FX1, 2, 3群에서 16 ± 0.8 , 23 ± 0.8 , 24 ± 1.3 으로 對照群에 비해 蒼耳草의 全草와 뿌리의 모든 群에서는 有意性있게 減少하는 傾向을 보였으며, 열매에서는 1群에서만 有意性있는 減少를 보였다(Fig. 10).

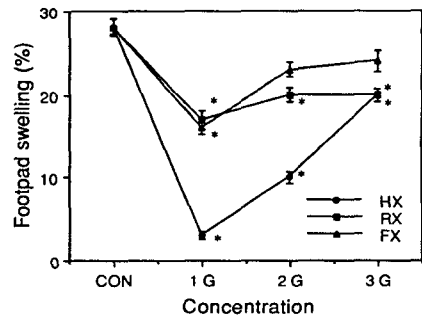


Fig. 10. Effects of HX, RX and FX administrations on foot-pad swelling responses in mice. Mice were immunized with SRBC 2×10^5 cells to tail vein on day 0. Mice were challenged on day 4 after immunized to foot-pad, and foot-pad swelling was measured 24 hrs late. The components of administered drugs are the same as Fig. 1. Significant inhibition was shown in seven mouse groups (HX1,2,3, RX1,2,3, FX1). Data show mean \pm S.E. * $P < 0.05$ compared with control.

IV. 考 察

蒼耳草는 菊花科(영거시과:Compositae)에 속한 1年生 草本 植物인 도꼬마리 *Xanthium strumarium* L.와 同屬 植物인 몽고도꼬마리 *Xanthium mongolium* KITAGAWA 및 가시도꼬마리 *Xanthium spinosum* L. 등이 있는 것으로 調査되었으나 우리 나라에서는 도꼬마리 *Xanthium strumarium* L.가 全國적으로 가장 흔하게 自生되고 있었다.

도꼬마리의 異名으로는 胡藟·地葵·常思·蒼耳·胡寢子·卷耳·爵耳·耳瑠·豬耳·進賢菜 등으로 複雜하게 나타났으나 주로 胡藟^{5,22,42,45,46,50,60,63,73,80,89,106}와 地葵^{22,42,45,46,50,60,65,70,72,73,78,89,106}로 記錄된 文獻이 많았으며, 앞이나 열매의 形態에서 由來한 이름이 많은 것으로 생각된다.

또한 「神農本草經疏」²⁶⁾에서 “藟耳蒼耳也”라 함으로써 藟耳와 蒼耳는 同物異名임을 알 수 있고 이후 現今에 이르기까지 蒼耳草의 成熟한 果實을 蒼耳子 또는 蒼耳實이라 하고 있다.

性味에 있어서 蒼耳草가 苦辛微寒^{3,4,20,26,37,43,53,92}·苦甘溫¹⁾·有小毒^{20,26,37)}·有毒^{3,4,92)}或甘¹⁾溫²⁾으로, 蒼耳根은 溫²⁾·苦涼⁶⁴⁾·苦溫¹⁰⁷⁾·辛溫⁹⁹⁾·微苦⁹⁵⁾·有小毒⁹⁵⁾或涼⁶⁴⁾·平⁹⁵⁾으로 蒼耳子가 甘溫^{2,11,16,23,60,66,71-73,89,95,96,106,107,115)}·甘苦溫^{4,13,22,38,42,50,53,59,62,64,68,69,80,98,99,103,111,116,120)}·苦辛溫^{29,30,34,37,41,61,92,97,100,111,114)}·甘苦辛溫^{43,70,84,93)}·有小毒^{16,20,23,29,30,34,37,41,43,50,53,59,61,66,69-73,84,92,93,96-101,107,111,114-116)}或寒³⁵⁾或平⁴⁹⁾으로 調査되어 藥用部位에 따라 藥性이 다르게 나타남을 알 수 있다.

蒼耳草는 祛風散熱^{3,6,30,33,39)}·解毒殺蟲^{3,6,33,39)} 등의 效能으로 風濕痺痛^{3,49,69)}·四肢拘攣^{3,6,33)}·麻風^{2,3,5,27,31-33,35,49,66,91)}·疔毒³⁾·皮膚瘙癢^{3,6,32,33,42,91)} 등을 治하며, 蒼耳根은 驅風⁵²⁾·解毒⁵²⁾·消炎⁵²⁾ 등의 效能으로 中風⁵²⁾·傷風頭痛⁵²⁾·痺痛⁵²⁾·癩癧^{2,52)}·蛇傷⁵²⁾·皮膚病⁵²⁾·癰疽^{1,6,52,79)}·腫毒⁵²⁾을 治하며, 蒼耳子는 散風^{1,3,5,7,9,18,29,40-42,47,52,57,74,76,86)}·止痛^{1-3,9,15,18,27,32,52,53,55,58,59,68,78,79,95)}·祛濕¹⁾

3,5,9,41,42,47,53,57,74,76)·殺蟲^{7,47,53,71,79)} 등의 效能으로 風寒頭痛^{1,4,7,12-14,20,26,27,34,35,40-42,48,49,54,55,60,65,66,68,70,73,76,79,81,82,86,91,92,94)}·鼻淵^{1,9,11,15,17,20,26,32,40,41,49,52,54,55,57-59,69,73,76,79,81,82,91,94,95)}·齒痛^{1,9,11,17,49,57,59)}·風寒濕痺^{1,9,15,55,56,68,71,76,94,95)}·四肢攣痛^{1,14-16,33,40,48,54,57,60,62,68-70,86,92,95)}·疥癩^{1,7,9,12,15,79,95)}·瘙癢^{1,3,7,13,25,26,38,41,47,57,60,62,69,92)} 등을 治하는 것으로 調査되어 있어 向後 性味에 의한 效能이나 毒性에 대하여 實驗적으로 研究해야 될 것으로 생각된다.

蒼耳草는 成人病人 高血壓·糖尿 및 諸炎症疾患에 널리 應用될 수 있으며, 특히 蒼耳根은 抗癌 作用^{5,35,106)}이 있어 癌治療劑로서 研究할 만한 價値가 있을 것으로 思料되며, 우리 나라에서 가장 많이 活用되고 있는 蒼耳草 열매의 效能에 대한 實驗的인 方法은 藥材의 啓發과 客觀性의 立證이란 面에서 意義가 있을 것이다.

蒼耳草에 대한 成分 및 藥理 作用에 관해서는 實驗的인 研究가 있으나 藥用 部位別로 免疫에 대한 實驗은 報告된 바를 確認할 수 없었다.

本 實驗에서 蒼耳草 煎湯液의 投與는 實驗 動物의 食食能을 生體內에서는 HX2群과 FX1群, 試驗管內에서는 HXB, RXB, RXC群 및 FXB, FXC群에서만 增加시켰는데 이러한 現象은 蒼耳草의 投與 濃度에 依存的이었다(Fig. 1, 2).

單核 大食細胞가 이미 食食한 微生物이나 腫瘍 細胞를 死滅시키는 데에는 單核 大食細胞가 活性化되어 反應窒素 및 酸素 中間物質을 生成해야 가능한 바 만약 大食細胞가 微生物을 食食만하고 反應窒素 및 酸素 中間物質들을 生成하지 못하면 大食細胞는 微生物에게 避難處와 營養物質을 提供하게 되므로 結果적으로 微生物의 繁殖을 促進시키고 腫瘍의 成長을 招來하게 된다.

本 實驗에서 蒼耳草煎湯液의 投與는 實驗動物 大食細胞의 nitric oxide(NO) 生成을 促進시켰는데(Table 1) 특히 蒼耳草 뿌리의 煎湯液 投與中 RXB群에서 가장 顯著하였다. 또한 蒼耳草의 藥用 部位에 의한 煎湯液 投與는 生體內 및

시험관 내에서 大食細胞의 反應酸素中間物質인 Superoxide나 Hydrogen peroxide의 生成을 投與 濃度에 依存的으로 增加시켰다(Fig.3, 4, 5, 6).

特異性 免疫反應은 淋巴球에 의하여 수행되며 淋巴球 中 胸線 由來 T細胞는 細胞性 免疫反應을 맡고 있는 反面 骨髓 由來 B細胞는 體液性 免疫反應을 擔當하고 있다. 免疫反應을 수행함에 있어 T 혹은 B細胞는 表面에 異物質을 認識할 수 있는 受容體를 가지고 있어 外部에서 個體에 侵入하였거나 内部에서 發生한 自我가 아닌 異物質을 特異적으로 認識하여 抗體를 生成하거나 cytokinin을 分泌하여 個體에 이로운 免疫을 주던가 아니면 個體에 해로운 過敏反應을 야기한다. 實驗動物의 抗體 形成에는 全草 投與群인 HX2群, 뿌리 投與群인 RX1群 및 열매 投與群인 FX1, 2, 3群에서만 溶血素價를 약간 增加시켰을 뿐 큰 影響을 미치지 아니하였다(Fig.7, 8). 그러나 全草, 뿌리, 열매 煎湯液의 모든 投與群에서는 脾臟細胞의 Rosette形成 細胞數를 약간 有意性 있게 增加시켰다(Fig.9).

接觸性 皮膚炎 등은 T 細胞의 媒介에 의하여 招來되고 過敏反應으로 實驗動物에서는 化學物質에 대한 遲延性 過敏反應으로 그 有無를 測定할 수 있다. Fig. 10 에서와 같이 蒼耳草 도꼬마리 煎湯液은 藥用部位 모두 遲延性 過敏反應을 減少시켰지만 그 中에서도 全草 煎湯液 投與群에서 가장 큰 抑制를 보였다.

以上の 結果를 綜合하면 蒼耳草의 藥用 部位別 煎湯液 投與는 選擇의 免疫反應을 增加시켜 抗微生物 및 抗腫瘍 작용을 促進시키는 同時에 淋巴球에 의한 過敏反應을 심히 抑制시키는 작용이 있음을 알 수 있었다. 蒼耳草는 麻風·疔毒·皮膚瘙癢, 蒼耳根은 癩癧·皮膚病·癰疽·腫毒, 蒼耳子是 疥癩·瘙癢 등의 主治症으로 臨床에서 應用하며, 最近에는 뿌리를 抗癌 藥物로 사용되는 것으로 알려진 바, 이는 本 實驗 結果와 매우 符合되는 것으로 생각된다.

V. 結 論

蒼耳草의 免疫能에 미치는 影響을 알아보고자 先天性 免疫能과 後天性 免疫能에 미치는 影響을 實驗한 結果 다음과 같은 知見을 얻었다.

1. 蒼耳草 煎湯液의 投與는 大食細胞의 生體內 食能에 있어서 全草 2群과 열매 1群에서만 有意性있게 增加시켰다.
2. 蒼耳草 煎湯液의 投與는 試驗管內에서 大食細胞의 食能을 全草 B群, 뿌리 B, C群, 열매 B, C群에서만 有意性있게 增加시켰다.
3. 蒼耳草 煎湯液의 投與는 뿌리 B群에서만 NO의 生成을 增加시켰다.
4. 蒼耳草 煎湯液의 投與는 生體內에서 luminol에 의해 增幅된 反應酸素 中間物質의 生成能을 全草와 뿌리의 모든 群에서 有意性있게 增加시켰다.
5. 蒼耳草 煎湯液의 投與는 生體內에서 lucigenin에 의해 增幅된 反應酸素中間物質의 生成能을 全草의 모든 群과 뿌리 1群, 열매 2群에서만 有意性 있게 增加시켰다.
6. 蒼耳草 煎湯液의 投與는 試驗管內에서 luminol에 의해 增幅된 反應酸素中間物質의 生成能을 全草 C群에서만 有意性있게 增加시켰다.
7. 蒼耳草根 煎湯液 投與는 試驗管內에서 lucigenin에 의해 增幅된 反應酸素 中間物質의 生成能을 全草 B群과 열매 B, C群에서만 有意性있게 增加시켰다.
8. 蒼耳草 煎湯液의 投與는 B 細胞로부터 形成되는 溶血素價에 全草 2群, 뿌리 1群과 열매의 모든 群에서 有意性있게 增加시켰다.
9. 蒼耳草 煎湯液의 모든 投與群에서 Rostte形成能을 有意性있게 增加시켰다.
10. 蒼耳草 煎湯液의 모든 投與群에서 遲延性 過敏反應을 抑制시켰다.

以上の實驗 結果 蒼耳草는 藥用部位 및 稀釋 濃度에 따라 試驗管内 및 生體內에서 先天性 免疫反應을 선택적으로 增加시키는 반면 遲延性 過敏反應은 抑制시키고 體液性 免疫反應에는 影響을 미치지 아니하였다. 그러므로 蒼耳草의 全草, 뿌리, 열매의 韓醫學的 主治症과 부합되는 것으로 생각되어 앞으로 深度있는 臨床研究가 要求된다.

參考文獻

1. 甘偉松 : 藥用植物學, 國立中國醫藥研究所, 臺北, pp.566-567, 1981.
2. 江蘇新醫學院 : 中藥大辭典, 上海科學技術出版社, 上海, pp.1071-1072, 1978.
3. 高學敏 : 中藥學(I), 北京中醫學院, 北京, pp. 53-54, 1986.
4. 廣東中醫學院 : 新編中醫學概要, 商務印書館香港分館, 香港, pp.195-196, 1973.
5. 邱年永, 張光雄 : 原色臺灣藥用植物圖鑑(I), 南天書局, 臺北, p.233, 1983.
6. 貴州省中醫學研究所 : 貴州中草藥名錄, 貴州人民出版社, 貴州, p.625, 1988.
7. 김동일 外 2名 : 鄉藥集成方, 여강출판사, 서울, pp.98-99, 1991.
8. 金信根 : 韓醫學書攷, 서울大學校出版部, 서울, p.20, 1981.
9. 金永在 外 3名 : 藥品資源植物學, 東明社, 서울, pp.340-341, 1974.
10. 金晟壽 : 標準本草學, 進明出版社, 서울, pp.359-360, 1975.
11. 金在吉 : 原色天然藥物大辭典(上卷), 南山堂, 서울, p.70, 1984.
12. 김현삼 外 3名 : 植物原色圖鑑, p.666,
13. 蘭茂 : 滇南本草, 雲南人民出版社, 雲南, pp.315-317, 1977.
14. 難波恒雄 : 原色和漢藥圖鑑, 保育社, 大阪, pp.254-256, 1980.
15. 內蒙古自治區革命委員會衛生局 : 內蒙古中草藥學, 內蒙古自治區人民出版社, 內蒙古, pp.458-459, 1972.
16. 盧文頤 : 本草乘雅半偈(校點本), 人民衛生出版社, 北京, pp.240-241, 1986.
17. 唐宗海容川 : 本草問答, 力行書局有限公司, 臺北, p.27,
18. 戴克敏 : 常用中藥的藥理和應用, 江蘇科學技術出版社, 江蘇, pp.126-127, 1981.
19. 大森健守 外 : Oxatominde 藥理作用, 日藥理誌, 80, pp.261-270, 1982.
20. 戴新民 : 抗癌中草藥, 啓業書局有限公司, 臺北, pp.104-106, 1972.
21. 大韓藥師韓藥研究會 : 韓藥學, 한국메디칼인텍스사, 서울, p.288, 1991.
22. 陶弘景 : 名醫別錄, 人民衛生出版社, 北京, pp.141-142, 1986.
23. 馬興民 : 新編中藥炮制法, 陝西科學技術出版社, 陝西, PP 421-423, 1981.
24. 滿洲醫科大學內, 日本和漢藥文獻, 久保田先生御在職記念事業委員會, pp.221-222,
25. 孟詵, 張鼎 : 食療本草, 人民衛生出版社, 北京, p. 6, 1984.
26. 繆希雍 : 神農本草經疏三, 臺灣商務印書館, 臺灣, p.3, 1973.
27. 閔仁植 : 古今醫方, 創美社, 서울, p.266, 1978.
28. 朴萬圭 : 韓國雙子葉植物誌, 正音社, 서울, pp.474-475, 1974.
29. 范崔生 : 中藥採集收購監別手冊, 江西科學技術出版社, 江西, pp.561-562, 1985.
30. 福建省光澤具衛生局 福建省光澤具中醫院 : 中藥加工與炮制, 福建科學技術出版社, 福建, pp.134-135, 1981.
31. 北京中醫學院中藥方劑教研組 : 藥性歌括四百味自和解修訂本, 商務印書館香港分館, 香港, p.69 1973.
32. 馮洪錢 : 民間獸醫本草, 科學技術文獻出版社,

- 北京, pp.218-220, 1984.
33. 謝惠民：常用藥物知識，科學技術出版社，北京，pp.263-264, 1980.
34. 山東人民醫院：實用藥物手冊，山東科學技術出版社，山東，pp. 985-986, 1981.
35. 常敏毅：抗癌本草，湖南科學技術出版社，湖南，pp. 158-159, 1984.
36. 常毅敏：抗癌本草，도서출판바람과물결，서울，pp.310-241, 1992.
37. 上海市衛生局：上海市中藥飲片炮制規範，上海科學技術出版社，上海，pp.134-135, 1980.
38. 上海中醫學院：中草藥學，商務印書館香港分館，香港，pp.267-269, 1975.
39. 徐楚江：中藥炮制學，上海科學技術出版社，上海，p.45,
40. 薛瑜：雷公炮制藥性解，大中國圖書公司，臺北，pp.62-63, 1962.
41. 成都中醫學院：中藥學，上海科學技術出版社，上海，pp.44-45, 1982.
42. 蘇敬等：唐·新修本草，安徽科學技術出版社，合肥，pp.222-223, 1981.
43. 蕭培根：中國本草圖錄，常務印書館，香港，p.206, 1989.
44. 篠原德文助：臺灣野生食用植物圖譜，自然科學文化事業公司出版部，臺北，pp.91-92, 1977.
45. 小泉榮次郎：和漢藥考，生生舍出版部，東京，pp.346-348, 1893.
46. 小出良夫，和漢洋生藥全集，和歌山縣藥劑師會，和歌山縣，p.139, 1933.
47. 孫星衍等撰：神農本草經(卷二)，聞名學社出版社，臺北，pp.6-7, 1985.
48. 孫安嘉，繆細泉：中藥易混飲片鑑別，黑龍江科學技術出版社，哈爾濱，p.154, 1988.
49. 時逸人：中國藥物學，裕昌德書店，臺北，p.469, 1960.
50. 申佶求：申氏本草學，壽文社，서울，pp.255-257, 1973.
51. 辛民教：原色臨床本草學，南山堂，서울，pp.527-528, 1986.
52. 安德均(註解)：鄉藥採取月令，세종대왕기념사업회，서울，p.82, 1983.
53. 顏正華：臨床實用中藥學，人民衛生出版社，北京，pp.270-271, 1984.
54. 藥品植物學研究會：新·藥品植物學，學窓社，서울，p.385, 1991.
55. 楊見瑞：祁州中藥志，河北科學技術出版社，石家，p.163, 1987.
56. 楊東喜：本草備要解析，國興出版社，臺北，p.113, 1980.
57. 刈米達夫，木村雄四郎：和漢藥用植物，廣川書店，東京，pp.28-29, 1929.
58. 奧田拓男：天然藥物事典，廣川書店，東京，p.68, 1976.
59. 王廣津，莊國康：瘡瘍外用本草，人民衛生出版社，北京，pp.240-244, 1982
60. 王筠默，王恒芬：神農本草經校註，吉林科學技術出版社，吉林，pp. 344-348, 1988.
61. 王浴生：中藥藥理與應用，人民衛生出版社，北京，pp.508-513, 1983.
62. 王孝濤：中藥飲片炮制述要，上海科學技術出版社，上海，pp.192-193, 1981.
63. 王孝濤：歷代中藥炮制法匯典(現代部分)，江西科學技術出版社，南昌，p.228, 1989.
64. 吳盛義：原色實用臺灣青草蕁，開山書店，臺南，pp. 202-203, 1983.
65. 劉國柱，周正仁，歐潤芝：臺灣野生可食植物，國立中國醫藥研究所，臺北，p.199, 1978.
66. 劉接寶：中藥材形態鑑別，立得出版社，臺北，pp.401-402, 1975.
67. 陸軍士官學校環境學科：軍事生物，東明社，서울，pp.244-245, 1980.
68. 陸昌洙 外 5名：漢藥의 藥理 成分 臨床應用，癸丑文化社，서울，pp.506-507, 1982.
69. 李東恒：珍珠囊補遺藥性賦，上海科學技術出版社，上海，pp.158-159, 1958.
70. 李尚仁：本草學，醫藥社，서울，pp.212-213, 1975.

71. 李尙仁, 安德均, 辛民教 : 韓藥臨床應用, 成輔社, 서울, pp.210-211, 1982.
72. 李樹猷 : 現代中草學, 正中書局, 臺灣, pp.218-220, 1973.
73. 李時珍 : 本草綱目, 高文社, 서울, pp.577-580, 1977.
74. 李龍城 : 經藥分類典, 壽文社, 서울, p.20, 1979.
75. 李槿 : 編註醫學入門(內集卷二), 大成文化社, 서울, p.63, 1981.
76. 李正遠, 康秉秀 : 韓藥炮制와 應用, 永林社, 서울, pp.272-273, 1991.
77. 李中梓 : 藥性賦, 醫道韓國社, 서울, pp.62-63, 1976.
78. 李昌福 : 大韓植物圖鑑, 鄉文社, 서울, p.733, 1980.
79. 李泰浩 : 最新國漢藥物學, 杏林書院, 서울, pp.464-465, 1968.
80. 李泰浩 : 化學基本解漢藥物學, 杏林書院, 경성, pp.203-204, 1931.
81. 伊澤凡人 : 原色版日本藥用植物事典, 誠文堂新光社, 東京, pp.71-72, 1955.
82. 林基興 : 藥用植物學, 東明社, 서울, p.297, 1969.
83. 張國棟 : 中草藥同名異物辨, 吉林人民出版社, 吉林, p.360, 1983.
84. 莊非祥, 李甯漢 : 香港中草學, 商務印書館香港分館, 香港, pp.156-157, 1978.
85. 張拙夫 : 中國本草學, 國立中國醫藥研究所, 臺北, p.200, 1959.
86. 長春中醫學院革命委員會 : 吉林中草藥, 吉林人民出版社, 吉林, pp.34-35, 1970.
87. 張賢哲, 蔡貴花 : 中藥炮制學, 中國醫藥學院出版組, 臺中, pp.563-565, 1973.
88. 赤松金芳 : 新訂和漢藥, 醫齒藥出版株式會社, 東京, pp.41-42, 1945.
89. 吳其濬 : 植物名實圖考長編, 臺南北一出版社, 臺南, pp.410-412, 1974.
90. 鄭懷賢, 懷德洲 : 實用傷科中藥與方劑, 四川科學技術出版社, 四川, p.153, 1985.
91. 趙學敏 : 本草綱目拾遺, 人民衛生出版社, 北京, p.122, 1983.
92. 周鳳梧 : 中藥學, 山東科學技術出版社, 山東, pp.99-101, 1981.
93. 周志林 : 本草用法, 醫林書局, 九龍, pp.105-106,
94. 周洪範 : 白話中國秘方全書, 好兄弟出版社, 臺北, p.694, 1970.
95. 中國生草藥研究發展中心 : 中國草藥手冊, 宏業書局有限公司, 臺北, pp.72-73, 1977.
96. 中國生草藥研究發展中心 : 中國藥林學(上, 下), 啓業書局, 臺北, pp.936-938, 1976.
97. 中國醫學科學院藥物研究所 : 中藥志(第三冊), 人民衛生出版社, 北京, pp.380-383, 1961.
98. 中藥臨床應用編寫組 : 中藥臨床應用, 廣東人民出版社, 廣東, pp.170-171, 1982.
99. 中國大辭典編輯委員會 : 中醫大辭典中藥分冊, 人民衛生出版社, 北京, pp.170-171, 1982.
100. 中華人民共和國衛生部藥典委員會 : 中華人民共和國藥典 1977年版一部, 人民衛生出版社, 北京, p.278, 1978.
101. 中華人民共和國衛生部藥典委員會 : 中華人民共和國藥典 1985年版一部, 人民衛生出版社, 北京, p.136, 1985.
102. 中華人民共和國衛生部藥典委員會 : 中國藥典中藥彩色圖集, 三聯書店, 香港, p.198, 1991.
103. 陳嘉謨 : 本草蒙筌, 人民衛生出版社, 北京, pp.112-113, 1988.
104. 陳石中 : 中醫藥理學, 五洲出版社, 臺北, pp.315-316, 1981.
105. 陳新謙, 金有豫 : 新編藥物學, 人民衛生出版社, 北京, p.230, 1983.
106. 陳存仁 : 中國藥學大辭典, 世界書局, 上海, pp.1583-1586, 1935.

107. 陳存仁：圖說漢方醫藥大辭典 第一卷，講談社，東京，pp.320-323, 1982.
108. 清水藤太郎：漢藥典奧付，廣川書店，東京，p.113, 1963.
109. 青海高原生物研究所：青蔣高原藥物圖鑑，青海人民出版社，青海，pp.220-221, 1972-1979.
110. 河南省衛生廳：河南省中藥材炮制規範，河南科學技術出版社，河南，pp.221-222, 1974.
111. 河北省革命委員會衛生局：河北中草學，河北人民出版社，河北，pp.491-492, 1977.
112. 許浚：東醫寶鑑，南山堂，서울，pp.140,300, 376, 1980.
113. 湖南省衛生廳：湖南省中藥材炮制規範，湖南科學技術出版社，湖南，pp.134-135, 1983.
114. 湖北省革命委員會衛生局：中草學炮制規範，湖北人民出版社，湖北，p.118, 1979.
115. 湖北省革命委員會衛生局：湖北中草藥志(I)，湖北人民出版社，湖北，pp.475-479, 1978.
116. 胡月英，宣明盛：雲南抗癌中草藥，雲南人民出版社，雲南，pp.103-105,
117. 洪性範：臨床抗癌中草藥，成輔社，서울，pp.172-173, 1990.
118. 洪元植：現代中共의 癌治療，英文社，서울，p.225, 1982.
119. 華惠倫 外 3名：動植物致毒及防治，上海科學技術出版社，上海，pp.241-243, 1985.
120. 黃宮繡：本草求真，上海科學技術出版社，上海，p.129, 1959.
121. 黃度淵：方藥合編，南山堂，서울，p.170, 1978.
122. 黃元御：黃氏醫書八種，書苑堂，부천，p.696, 1983.
123. 黃延玉，史銀秀：中草藥制劑，廣西人民出版社，廣西，p.159, 1981.
124. Austyn, J.M. and Gordon, S. : F4/80: Monoclonal antibody directed specifically against the mouse macrophage. Eur.J. Immunol., 7,805-815, 1981.
125. Biozzi G., Stiffel, C., Mouton, D., Bouthiller, Y. and Decrusefond, C. : A Kinetic Study of Antibody Producing Cells in the Spleen of Mice Immunized Intravenously with sheep erythrocytes, Immunology, 14:7,1968.
126. Davis, A.J.S. et al : The failure of thymus-derived cells to produce antibody Transplantation,5:222, 1967.
127. Drapier J.C., and Hibbs, J.B., Jr. Differentiation of murine Macrophages to express nonspecific cytotoxicity for tumor cells results in L-arginine-dependent inhibition of mitochondrial iron-sulfur enzymes in the macrophage effector cells. J.Immunol., 140, 2689-2838. 1988
128. 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.
129. Hibbs, J.B., Jr., R.R. Taintor, H.A. Chapman, Jr., and J. B. Weinberg Macrophage tumor killing : influence of the local environment. Sci., 197, 1977.
130. Hume, D.A., Loutit, J.F. and Gordon, S. : The mononuclear phagocyte system of the mouse defined by immunohistochemical localization of antigen F4/80. Macrophages of bone and associated connective tissue. J.Cell.Sci., 66:189-194. 1984.
131. 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.
132. Miller, T.E. et al : Immunopotential with BCGII, modulation of the response to sheep red blood cells, *J. Nat. Cancer Inst.*, 51:16669, 1973.
133. Mitsuoka, 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.
134. Sells, S. : Immunology, immunopathology and immunity, Hagerstown, Maryland, Harper & Row pub., PP114-171, 1980.
135. Shepherd, V. L., Comphell, 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.
136. 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 Bio.*, 106, 1983.
137. 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.
138. Winter, M. and Buschmann, H. G. : Measuring phagocytic capacity in polymorphonuclear cell of the pig a comparison between different assay, *J. Vet. Med.*, 834:504, 1987.
139. Winy, E. J., Gardner, I. D., Ryminy, F. W. and Remington, J. S. : Dissociation of effector functions in populations of activated macrophages, *Nature*, 268:642, 1977.-