蔘朮健脾湯이 흰쥐의 免疫反應에 미치는 影響

李承蓮* · 金璋顯**

*東國大學校 韓醫科大學 小兒科專攻

**東國大學校 韓醫科大學

ABSTRACT

Effects of *Samchulkunbitang* on the Immunosuppression Induced by Methotrexate in Rats.

Seung-Yeon Lee · Jang-Hyun Kim*

*Dept. of Pediatrics, College of Oriental Medicine, Dongguk University, Seoul, Korea

Introduction

The effects of *Samchulkunbitang* on the immunosuppression induced by methotrexate in rats were investigated in this experument. The multiple parameters of immunity assessed in each rats includes the rate of body weight loss, weight changes in thymus, spleen and axillary lymphnode. The number of lymphocytes and CD4+ T cell count in the blood, thymus, spleen and axillary lymphnode were also measured.

Methodology

Male Sprague-Dawley rats were chosen as an experiment object and were divided into 4 groups by a random selection. Each group consisted of 6 rats. The normal group didn't receive any treatment. The control group was administered with methotrexate for 5 days. The sample I group was administered with *Samchulkunbitang* for 5 days. The sample II group was administered with both *Samchulkunbitang* and methotrexate for 5 days. The dosage of medication was 2cc/day, 1cc given at 10 AM and another 1cc given at 5 PM.

Results

The rate of body weight loss was significantly increased in the Sample I and Sample II group. The weight of thymus and spleen were significantly increased in Sample I and Sample II groups While the weight of axillary lymphnode did not show much increase. No significant differences were measured among the experimental groups.

Blood lymphocyte count, blood CD4+ T cell count, spleen lymphocyte count, axillary lymphnode lymphocyte and CD4+ T cell count were significantly increased in Sample I and Sample II groups while spleen CD4+ Tcell count did not show much increase. No significant differences were measured among the experimental groups.

Conclusion

As one can witness from the above results, administration of *Samchulkunbitang* played potent role in increasing immune system among the rats treated with methotrexate which induces immunosuppression. Overall increase of lymphocyte count and CD4+ T cell count in the sample groups with *Samchulkunbitang* effectively proves its ability to boost the immune system.

Ⅰ. 緖論

免疫은 生體가 自己와 非自己를 식별하는 機轉으로서 외부로부터 侵入하는 각종 微生物, 同種의 組織이나 體內에 생긴 불필요한 産物 등을 非自己인 抗原으로 認識하고 特異하게 反應하여 抗體를 生産하고 이를 除去함으로써 그 個體의 恒常性을 維持하는 현상[1-3]으로 認識되고 있다. 免疫에 대한 槪念은 韓醫學에서는 正氣가 온전하여 邪氣가 들어오더라도 生命體가 스스로 破壞되지 않게 自己를 保護하는 抗爭過程으로 설명하고 있다[4].

黃帝內經 素問[5] 「刺法論」에 "正氣存乃 邪不可干", 「評熱病論」에서는 "邪氣所湊 其氣必虛"라 하여 人體에 內在하는 一種의 疾病에 대한 抵抗力을 正氣라 보았으며, 扶正의 方法은 益肺 健脾 補腎 등의 治療를 包括하여 인체의 氣血不足을 補하여 陰陽과 臟腑機能 失調를 調整하여 抵抗力을 增强시키는 것이다[6-10].

蔘朮健脾湯은 許[11]의 東醫寶鑑에 收錄되어 있으며, 李[12]는 四君子湯과 平胃散의 複合處方으로써 蒼朮을 除去하고 山査, 枳實, 白芍藥, 砂仁, 神曲 및 麥芽 등을 配合한 處方으로 健脾養胃 運化飮食의 效能이 있다고 하였다. 以後 諸 醫家들[11,13-18]은 消化力을 促進시키는 處方으로서 元氣虛弱으로 인하여 食慾不振, 消化不良, 心下痞塞 및 腹部膨滿感 等의 症狀이 나타나는 虛證에 응용한다 하였다. 蔘朮健脾湯의 效能에 대한 實驗的 硏究로는 金 等[19]이 胃液分泌, 胃酸過度 및 pepsin 活性度의 減少效果와 腸管輸送能의 增加效果가 있음을 報告하였다.

이에 著者는 蔘朮健脾湯이 免疫反應에 미치는 影響을 관찰하기 위하여 흰쥐를 對象으로 體重減少率, 胸腺, 脾臟, 兩側 腋窩淋巴節의 무게, 血液, 胸腺, 脾臟, 腋窩淋巴節에서의 淋巴球數 및 CD4+ T細胞率을 測定하여 比較, 觀察하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

Ⅱ. 實驗

1. 材料 및 方法

1) 材料

(1) 動物

動物은 體重 200±10g의 Sprague Dawley系 수컷 흰쥐를 사용하였으며, 固形飼料와 生理食鹽水를 충분히 공급하면서 實驗室 環境에서 2주간 適應시킨후 健康이 良好한 것을 선택하여 사용하였다.

(2) 藥材

본 實驗에 사용한 藥材는 東國大學校 韓醫科大學 附屬韓方病院에서 購入 精選하여 사용하였으며, 處方은 東醫寶鑑[11]에 收錄된 蔘朮健脾湯으로서 1貼의 處方內容과 分量은 다음과 같다.

藥材	生藥名	用量(g)
人蔘	*Ginseng Radix*	4
白朮	*Atractylodis Macrocephlae Rhizoma*	4
白茯苓	*Hoelen*	4
厚朴	*Machili Cortex*	4
陳皮	*Aurantii Nobilis Pericarpium*	4
山査	*Crataegi Fructus*	4
枳實	*Ponciri Fructus*	3
白芍藥	*Paeoniae Radix*	3
神曲	*Massa Medicata Fermentata*	2
麥芽	*Hordei Fructus Germinatus*	2
砂仁	*Amomi Semen*	2
甘草	*Glycyrrhizae Radix*	2
總量		38

(3) 試藥

本 實驗에 사용된 試藥으로는 Methotrexate (MTX, $C_{20}H_{11}N_8O_5$, Sigma, U.S.A), Chloroform (덕산, 한국), EDTA (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid Dipotassium Salt ,Seikeisue, Medical, Japan), PBS (sodium chloride - 9g, 덕산, 한국, sodium phosphate, monobasic - 0.28g, 덕산, 한국, sodium phosphate, dibasic anhydrous - 1.15g, Shinyo Pure, Japan), Limphoprep (1.007±0.0001g/㎖, Nycomed Pharma, As, Olso, Norway), RPMI 1640 (Gibco Brl, U.S.A), Trypan blue exclusion (Acros Organics, U.S.A), Antibiotic antimycotic solution (Gibco, No. 6005240 NY, U.S.A), FITC Anti Rat CD4 + Monoclonal Antibody (Cedarlane, Ontario, Canada), Medium A (PBS + 5% normal serum of host species + sodium azide (100㎕ of 2M sodium azide in 100 ㎖)), Ice cold medium B (PBS + 5% bovine serum albumin + sodium azide (100㎕ of 2M sodium azide in 100㎖)), Propidium iodine, (Difco, U.S.A), Mounting Fluid (Difco, U.S.A)를 使用하였다.

2) 方法

(1) 檢液의 調製

蔘朮健脾湯 材料 228g(6貼分量)을 蒸溜水 2,000cc로 3시간 煎湯하여 찌꺼기를 버리고 남은 湯液 600cc를 減壓濃縮器로 200cc로 濃縮하여 煎湯液을 調製하였다.

(2) 實驗群의 分類 및 處置

實驗動物은 6마리를 1群으로하여 아무런 처치도 하지 않은 正常群, methotrexate를 投與한 對照群, 蔘朮健脾湯을 單獨投與한 實驗群Ⅰ 및 蔘朮健脾湯과 methotrexate를 混合投與한 實驗群Ⅱ로 나누었으며, 對照群에는 methotrexate(1㎎/㎏)를 1cc의 生理食鹽水에 녹여서, 實驗群Ⅰ에는 蔘朮健脾湯 煎湯液 1cc를, 實驗群Ⅱ에는 methotrexate(1㎎/㎏)를 1cc의 蔘朮健脾湯 煎湯液에 녹여서, 각각 每日 午前 10時와 午後 5時 2回씩 5日間 經口投與하였으며, 最終 藥物 投與 1時間後부터 採血 및 測定을 하였다.

(3) 採血 및 淋巴球 分離

Chloroform으로 痲醉하고 心臟穿刺하여 血液을 EDTA가 들어있는 병에

넣어 잘 섞어서 凝固를 防止한 뒤 사용하였다.

EDTA를 사용하여 凝固防止한 血液에 同量의 PBS를 섞은 후, Limphoprep을 添加하여 25분동안 2,000rpm에서 遠心分離하여 上層을 버리고, 중간에 하얗게 浮遊해 있는 lymphocyte를 分離하였다. 分離된 lymphocyte를 PBS에 浮遊시켜서 220g에서 10분간 2回 遠心洗滌한 후 RPMI 1640 medium에 浮遊시키고, 光學顯微鏡을 이용하여 Trypan blue exclusion으로 細胞數를 測定하였다.

(4) 體重減少率 測定

MTX 投與와 藥物投與에 대한 몸무게의 변화, 즉 體重減少率은 다음과 같은 방법으로 구하였다.

실험전 몸무게 − 약물처치후 몸무게 = 體重變化

$$\frac{\text{體重變化}}{\text{실험전 몸무게}} \times 100 = \text{體重減少率(\%)}$$

(5) 胸腺, 脾臟, 兩側 腋窩淋巴節 무게 測定

心臟採血 後 無菌狀態에서 흰쥐의 胸腺, 脾臟, 그리고 兩側 腋窩淋巴節을 摘出하여 PBS를 2㎖가 들어있는 petri dish를 올려 놓고 0점 조절을 한 뒤, 각 組織을 petri dish위에 얹어 무게를 測定하였다.

(6) 각 組織에서 淋巴球 分離

위에서 摘出한 각 組織을 antibiotic antimycotic solution으로 洗滌한 후 PBS가 들어있는 petri dish에서 작은 해부가위로 잘게 자른 후 滅菌된 유리막대로 조심스럽게 문질러 각 조직 細胞를 浮遊시키고, 스테인철망에 濾過하여 組織片과 遊離되지 않는 細胞덩어리를 제거하여 浮遊液을 만들었다. 이 浮遊液을 25분동안 2000rpm에서 遠心分離하여 가라앉힌 뒤 上層液을 버리고, 다시 2㎖ PBS를 가하고 limphoprep을 添加하여 25분동안 2000rpm에서 遠心分離하여 上層을 버리고, 중간에 하얗게 浮遊해있는 lymphocyte 層을 分離해 냈다. 分離된 lymphocyte를 PBS에 浮遊시켜서 2,000rpm에서 10分間 2回 遠心洗滌한 후 RPMI 1640 medium에 浮遊시키고, Trypan blue exclusion으로 細胞數를 測定하였다.

(7) 血液 및 각 組織 淋巴球의 CD4+T 細胞率 測定

RPMI 1640에 浮遊시킨 각 淋巴球 細胞를 media A에 2×10^7cells/㎖의 濃度로 細胞를 再浮遊시키고, 각 시험관에 FITC Anti Rat CD4+ Monoclonal Antibody를 0.5㎕씩 가하고 Votex mixer로 잘 섞는다. 이 混合液을 빛이 차단되도록 Aluminum foil로 씌우고 4°C에서 30분간 培養한 뒤, 4°C에서 PBS로 2회 洗滌하고, 50㎕의 ice cold media B에서 cell pellet을 재 浮遊시켰다. 0.5㎎/㎖의 농도로 PBS에 propidium iodine을 녹여 그 중 15㎕를 적당한 시험관에 옮기고, Mounting Fluid 한방울을 떨어 뜨린 뒤 잘 섞어 표본을 만든 뒤, 螢光顯微鏡으로 觀察

하였다. 細胞數 測定은 光學視野에서 200개 이상의 細胞를 測定하고 나서 螢光視野에서 螢光이 발색된 細胞만 測定한 뒤 百分率을 구하였다.

(8) 統計處理

各 群의 統計處理는 statistical analysis system(SAS)를 이용하였으며, 먼저 分散比(F-value)를 계산하여 實驗의 有意性을 檢證한 후, 有意水準 95%(α =0.05)에서 Duncan 多重比較分散分析法으로 多重比較하였다.

Ⅲ. 成 績

1. 體重減少率

正常群은 -0.003±0.07%, 對照群은 22.22±0.58%, 實驗群Ⅰ은 1.15±0.49%, 實驗群Ⅱ는 11.11±1.44%였으며, 전체 實驗群間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위하여 分散分析한 결과 F-value는 159.7로 有意性이 認定되었다.

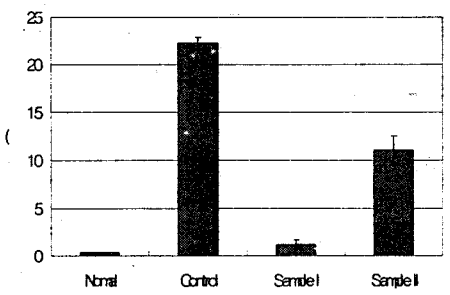
Duncan 檢定法에 의한 多重比較에 있어서는 對照群에 비해 實驗群Ⅰ과 實驗群Ⅱ에서 모두 有意性($p<0.0001$)이 있었으며, 實驗群間의 비교에서는 實驗群Ⅰ이 實驗群Ⅱ에 비하여 正常群에 가깝게 나타났다.(Table Ⅰ, Fig. 1)

Table Ⅰ. Effects of *Samchulkunbitang* Administration on The Rate of Body Weight Loss of Rats

Group	No. of animal	Rate of Body Weight Loss(%)	Duncan grouping
Normal	6	-0.003±0.07[1)]	C[2)]
Control	6	22.22±0.58	A
Sample Ⅰ	6	1.15±0.49	C
Sample Ⅱ	6	11.11±1.44	B
F-value		159.7	

1) Mean ± Standard error of 6 rats
2). The same letter is not significantly different at the α =0.05 level by Duncan test
Normal : Untreated group.
Control : MTX administered group.
Sample Ⅰ : *Samchulkunbitang* administered group.
Sample Ⅱ : MTX and *Samchulkunbitang* administered group.

Fig. 1. Effects of *Samchulkunbitang* administration on the rate of body weight loss of rats



2. 胸腺, 脾臟, 兩側 腋窩淋巴節 무게

胸腺 무게는 正常群이 0.490±0.044g, 對照群이 0.216±0.018g, 實驗群Ⅰ이 0.665±0.061g, 實驗群Ⅱ가 0.310±0.035g이었으며, 實驗群間에 有意한 差異($p<0.0001$)가 있는가를 檢定하기 위하여 分散分析한 결과 F-value는 21.49로 有意性이 認定되었다.

Duncan 檢定法에 의한 多重 比較에 있어서는 實驗群Ⅰ과 實驗群Ⅱ에서 모두 對照群에 비해서 有意性 있는 增加를 보였으며, 實驗群間에서도 實驗群Ⅰ이 實驗群Ⅱ에 비하여 正常群에 가깝게 나타났다.(TableⅡ, Fig. 2-1)

脾臟 무게는 正常群이 1.223±0.015g, 對照群이 0.650±0.087g, 實驗群Ⅰ이 1.145±0.206g, 實驗群Ⅱ는 0.688±0.150g이었으며, 實驗群間에 유의한 차이가 있는가를 檢定하기 위하여 分散分析한 결과 F-value는 3.68로 有意性이 認定되었다.

Duncan 檢定法에 의한 多重 比較에 있어서는 實驗群Ⅰ에서는 對照群에 비해 有意性($p<0.0293$)이 있는 增加를 보였으나, 實驗群Ⅱ에서는 有意性이 없었다.(Table Ⅱ, Fig. 2-2)

腋窩淋巴節 무게는 正常群이 0.110±0.015g, 對照群이 0.067±0.008g, 實驗群Ⅰ이 0.090±0.011g, 實驗群Ⅱ가 0.068±0.015g이었으며, 實驗群間에 유의한 차이가 있는가를 檢定하기 위하여 分散分析한 결과 F-value는 2.42로 有意性이 認定되었다.

Duncan 檢定法에 의한 多重 比較에 있어서는 實驗群Ⅰ과 實驗群Ⅱ에서 모두 有意性이 있는 변화가 없었다.(Table. Ⅱ, Fig.2-3)

Table Ⅱ. Effects of *Samchulkunbitang* Administration on The Weight of Thymus, Spleen and Axillary Lymph node in Rats

Group	Thymus (g)	D	Spleen (g)	D	Axillary Lymph node (g)	D
Normal	0.490±0.044	B	1.223±0.015	A	0.110±0.015[1]	A[2]
Control	0.216±0.018	C	0.650±0.087	C	0.067±0.008	B
Sample Ⅰ	0.665±0.061	A	1.145±0.206	AB	0.090±0.011	AB
Sample Ⅱ	0.310±0.035	B	0.688±0.150	BC	0.068±0.015	B
F-value	21.49		3.68		2.42	

1) Mean ± Standard error of 6 rats
2) The same letter is not significantly different at the α=0.05 level by Duncan test
D: Duncan grouping
Normal : Untreated group.
Control : MTX administered group.
Sample Ⅰ : *Samchulkunbitang* administered group.
Sample Ⅱ : MTX and *Samchulkunbitang* administered group.

Fig. 2-1. Effects of *Samchulkunbitang* administration on the weight of thymus in rats

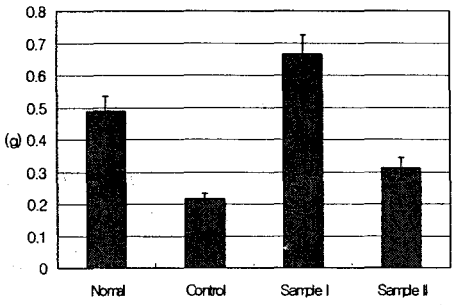


Fig. 2-2. Effects of *Samchulkunbitang* administration on the weight of spleen in rats

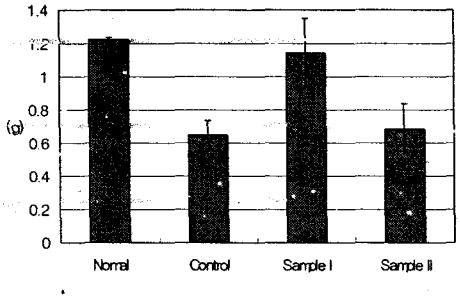
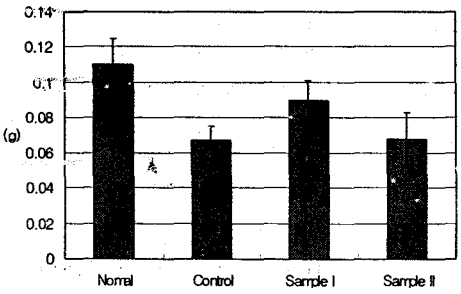


Fig. 2-3. Effects of *Samchulkunbitang* administration on the weight of axillary lymphnode in rats



3. 血液 중 淋巴球數

血液에서 淋巴球數는 正常群이 163.00±17.03(×10^5/㎖), 對照群이 72.16±5.11(×10^5/㎖), 實驗群Ⅰ이 132.00±24.47(×10^5/㎖), 實驗群Ⅱ는 88.66±7.31(×10^5/㎖)이었으며, 實驗群間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위하여 分散分析한 결과 F-value는 7.04로 有意性이 認定되었다.

Duncan 檢定法에 의한 多重 比較에 있어서는 實驗群Ⅰ에서는 對照群에 비해 有意性($p<0.0020$)이 있는 增加를 보였으나, 實驗群Ⅱ에서는 有意性이 없었다.(Table Ⅲ, Fig. 3)

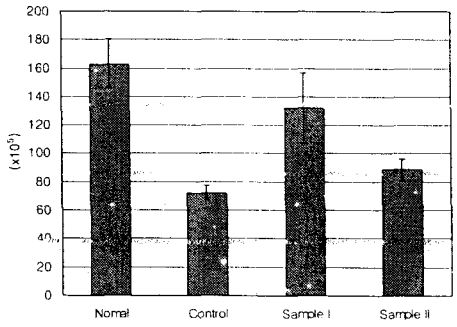
Table Ⅲ. Effects of *Samchulkunbitang* Administration on the No. of Lymphocytes in Blood of Rats

Group	No. of animal	Lymphocytes in Blood(×10^5)/㎖	Duncan grouping
Normal	6	163.00±17.03[1]	A[2]
Control	6	72.16±5.11	C
Sample Ⅰ	6	132.00±24.47	AB
Sample Ⅱ	6	88.66±7.31	BC
F-value		7.04	

1) Mean ± Standard error of 6 rats
2) The same letter is not significantly different at the α=0.05 level by Duncan test
Normal : Untreated group.

Control : MTX administered group.
Sample Ⅰ : *Samchulkunbitang* administered group.
Sample Ⅱ : MTX and *Samchulkunbitang* administered group.

Fig. 3. Effects of *Samchulkunbitang* administration on the no. of lymphocytes in blood of rats



4. 血液 중 CD4+ T細胞率

血液中 CD4+ T細胞率은 正常群이 57.66±2.98%, 對照群이 37.16±1.42%, 實驗群Ⅰ이 48.33±1.38%, 實驗群Ⅱ는 46.16±1.47%였으며, 實驗群間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위하여 分散分析한 결과 F-value는 18.87로 有意性이 認定되었다.

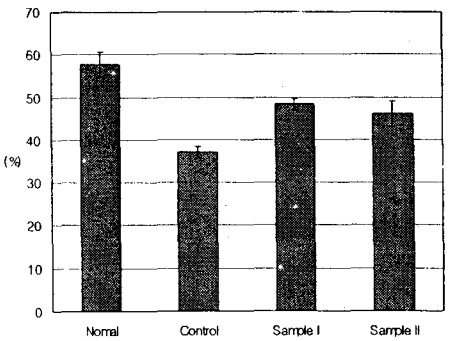
Duncan 檢定法에 의한 多重 比較에 있어서는 實驗群Ⅰ과 實驗群Ⅱ에서 모두 對照群에 비해서 有意性($p<0.0001$)이 있는 增加를 보였다.(Table Ⅳ, Fig.4)

Table Ⅳ. Effects of *Samchulkunbitang* Administration on The Blood CD4+ T cell count of Rats

Group	No. of animal	CD4+ T cell (%)	Duncan grouping
Normal	6	57.67±2.99[1]	A[2]
Control	6	37.16±1.42	C
Sample Ⅰ	6	48.33±1.38	B
Sample Ⅱ	6	46.16±2.98	B
F-value		18.87	

1) Mean ± Standard error of 6 rats
2) The same letter is not significantly different at the α=0.05 level by Duncan test
Normal : Untreated group.
Control : MTX administered group.
Sample Ⅰ : *Samchulkunbitang* administered group.
Sample Ⅱ : MTX and *Samchulkunbitang* administered group.

Fig. 4. Effects of *Samchulkunbitang* administration on the blood CD4+ T cell count of rats



5. 胸腺에서의 淋巴球數

胸腺에서 淋巴球數는 正常群이 687.20±12.89($\times 10^6$/㎖), 對照群이 252.83±28.17($\times 10^6$/㎖), 實驗群Ⅰ이 681.73±60.05($\times 10^6$/㎖), 實驗群Ⅱ는 240.66±49.04($\times 10^6$/㎖)였으며, 實驗群間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위하여 分散分析한 결과 F-value는 11.04로 有意性이 認定되었다.

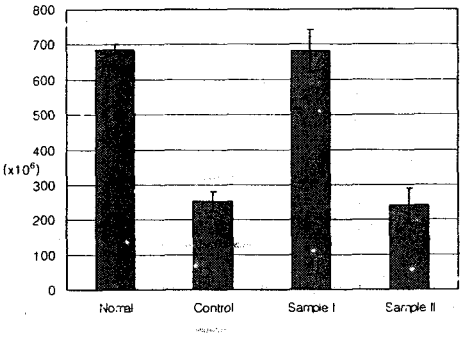
Duncan 檢定法에 의한 多重 比較에 있어서는 實驗群Ⅰ에서만 對照群에 비해 有意性($p<0.0002$)이 있는 增加를 나타내었다.(Table Ⅴ, Fig. 5)

Table Ⅴ. Effects of *Samchulkunbitang* Administration on the No. of Lymphocytes in Thymus of Rats

Group	No. of animal	Lymphocytes in Thymus($\times 10^7$)	Duncan grouping
Normal	6	687.20±12.89[1]	A[2]
Control	6	252.83±28.17	B
Sample Ⅰ	6	681.73±60.05	A
Sample Ⅱ	6	240.66±49.04	B
F-value		11.04	

1) Mean ± Standard error of 6 rats
2) The same letter is not significantly different at the α=0.05 level by Duncan test
Normal : Untreated group.
Control : MTX administered group.
Sample Ⅰ : *Samchulkunbitang* administered group.
Sample Ⅱ : MTX and *Samchulkunbitang* administered group.

Fig. 5. Effects of *Samchulkunbitang* administration on the no. of lymphocytes in thymus of rats



6. 胸腺에서의 CD4+ T細胞率

胸腺에서 CD4+ T細胞率은 正常群이 57.16±1.49%, 對照群이 47.16±1.32%, 實驗群Ⅰ이 60.83±3.17%, 實驗群Ⅱ는 58.00±1.86%이었으며, 實驗群間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위하여 分散分析한 결과 F-value는 8.10으로 有意性이 認定되었다.

Duncan 檢定法에 의한 多重 比較에 있어서는 實驗群Ⅰ과 實驗群Ⅱ에서 모두 對照群에 비하여 有意性($p<0.0010$)이 있는 增加를 보였다.(Table Ⅵ, Fig. 6)

Table VI. Effects of *Samchulkunbitang* Administration on the Thymus CD 4+ T cell count of Rats

Group	No. of animal	CD4+ T cell (%)	Duncan grouping
Normal	6	57.16±1.49[1)]	A[2)]
Control	6	47.16±1.32	B
Sample I	6	60.83±3.17	A
Sample II	6	58.00±1.86	A
F-value		8.96	

1) Mean ± Standard error of 6 rats

2) The same letter is not significantly different at the α=0.05 level by Duncan test.

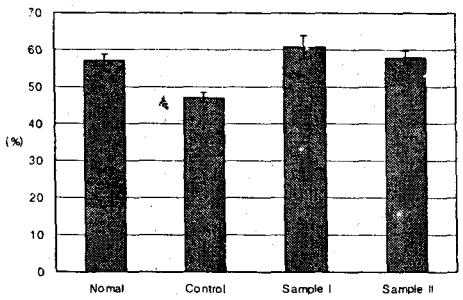
Normal : Untreated group.

Control : MTX administered group.

Sample I : *Samchulkunbitang* administered group.

Sample II : MTX and *Samchulkunbitang* administered group.

Fig. 6. Effects of *Samchulkunbitang* administration on the thymus CD4+ T cell count of rats



7. 脾臟에서의 淋巴球數

脾臟에서 淋巴球數는 正常群이 287.33±22.75(×10^6/㎖), 對照群이 128.33±6.20(×10^6/㎖), 實驗群 I 이 243.16±20.72(×10^6/㎖), 實驗群 II는 164.66±16.77(×10^6/㎖)로 實驗群間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위하여 分散分析한 결과 F-value는 16.56으로 有意性이 認定되었다.

Duncan 檢定法에 의한 多重 比較에 있어서는 實驗群 I 에서만 對照群에 비해 有意性($p<0.0001$)이 있는 增加를 나타내었다.(Table VII, Fig. 7)

Table VII. Effects of *Samchulkunbitang* Administration on The No. of Lymphocytes in Spleen of Rats

Group	No. of animal	No. of Lymphocytes (×10^6)	Duncan grouping
Normal	6	287.33±22.75[1)]	A[2)]
Control	6	128.33±6.20	B
Sample I	6	243.16±20.73	A
Sample II	6	164.56±16.77	B
F-value		18.94	

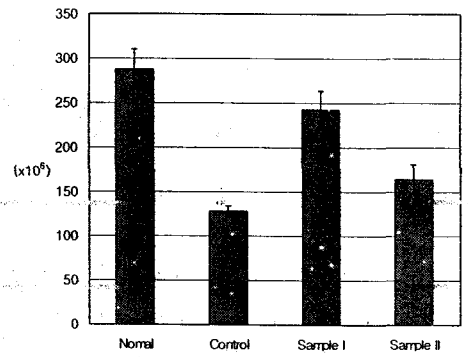
1) Mean ± Standard error of 6 rats

2) The same letter is not significantly different at the α=0.05 level by Duncan test

Normal : Untreated group.

Control : MTX administered group.
Sample Ⅰ : *Samchulkunbitang* administered group.
Sample Ⅱ : MTX and *Samchulkunbitang* administered group.

Fig. 7. Effects of *Samchulkunbitang* administration on the no. of lymphoc ytes in spleen of rats



8. 脾臟에서의 CD4+ T細胞率

脾臟에서의 CD4+ T細胞率은 正常群이 43.00±4.16%, 對照群이 31.00±6.06%, 實驗群Ⅰ이 42.00±3.65%, 實驗群Ⅱ는 42.00±4.72%였으며, 實驗群間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위하여 分散分析한 결과 F-value는 3.01로 有意性이 認定되었다.

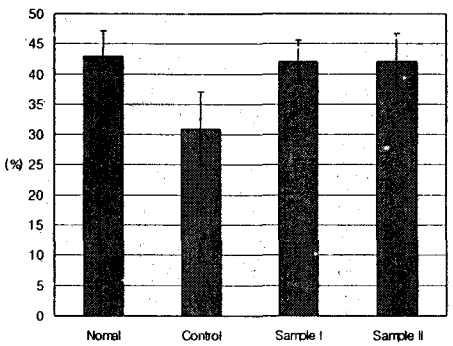
Duncan 檢定法에 의한 多重 比較에 있어서는 實驗群Ⅰ과 實驗群Ⅱ 모두 有意性 있는 변화는 없었다.(Table Ⅷ, Fig. 8)

Table Ⅷ. Effects of *Samchulkunbitang* Administration on The Spleen CD 4+ T cell count of Rats

Group	No. of animal	CD4+ T cell (%)	Duncan grouping
Normal	6	43.00±4.16[1)]	A[2)]
Control	6	31.00±6.06	B
Sample Ⅰ	6	42.00±3.65	AB
Sample Ⅱ	6	42.00±4.72	AB
F-value		3.01	*

1) Mean ± Standard error of 6 rats
2) The same letter is not significantly different at the α=0.05 level by Duncan test
Normal : Untreated group.
Control : MTX administered group.
Sample Ⅰ : *Samchulkunbitang* administered group.
Sample Ⅱ : MTX and *Samchulkunbitang* administered group.

Fig. 8. Effects of *Samchulkunbitang* administration on the spleen CD4+ T cell count of rats



9. 腋窩淋巴節에서의 淋巴球數

腋窩淋巴節에서 淋巴球數는 正常群이 91.98±2.29(×10^5/㎖), 對照群이 46.61±3.41(×10^5/㎖), 實驗群 I 이 72.36±11.20(×10^5/㎖), 實驗群 II 는 53.11±8.43(×10^5/㎖)이었으며, 實驗群間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위하여 分散分析한 결과 F-value는 7.85로 有意性이 認定되었다.

Duncan 檢定法에 의한 多重 比較에 있어서는 實驗群 I 에서만 有意性($p<0.0012$)이 있었고, 實驗群 II 에서는 有意性이 없었다.(Table IX, Fig. 9)

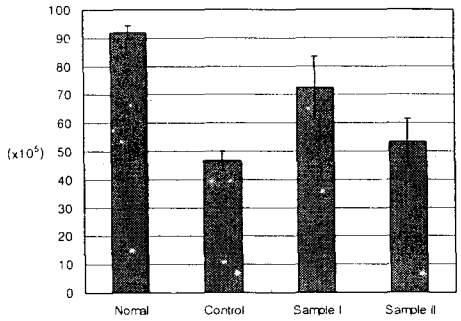
Table IX. Effects of *Samchulkunbitang* Administration on the No. of Lymphocytes in Axillary Lymphnode of Rats

Group	No. of animal	No. of Lymphocytes (×10^5)	Duncan grouping
Normal	6	91.98±2.29[1)]	A[2)]
Control	6	46.61±3.41	C
Sample I	6	72.36±11.20	AB
Sample II	6	53.11±8.43	BC
F-value		7.85	

1) Mean ± Standard error of 6 rats
2) The same letter is not significantly different at the α=0.05 level by Duncan test

Normal : Untreated group.
Control : MTX administered group.
Sample I : *Samchulkunbitang* administered group.
Sample II : MTX and *Samchulkunbitang* administered group.

Fig. 9. Effects of *Samchulkunbitang* administration on the no. of lymphocytes in axillary lymphnode of rats



10. 腋窩淋巴節에서의 CD4+ T細胞率

腋窩淋巴節에서 CD4+ T細胞率은 正常群이 53.50±2.29%, 對照群이 41.00±2.46%, 實驗群 I 이 57.83±3.27%, 實驗群 II 는 50.66±1.85%였으며, 實驗群間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위하여 分散分析한 결과 F-value는 8.00으로 有意性이 認定되었다.

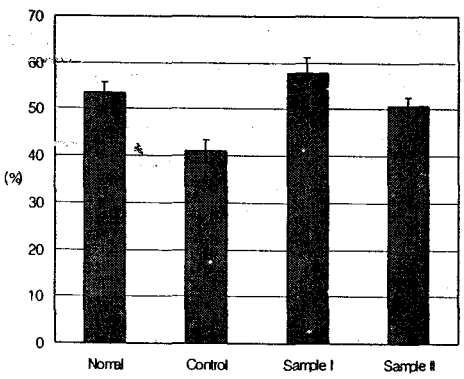
Duncan 檢定法에 의한 多重 比較에 있어서는 實驗群 I 과 實驗群 II 에서 모두 對照群에 비하여 有意性($p<0.0011$)이 있었다.(Table X, Fig. 10)

Table X. Effects of *Samchulkunbitang* Administration on the Axillary Lymphnode CD4+ T cell count of Rats

Group	No. of animal	CD4+ T cell (%)	Duncan grouping
Normal	6	53.50±2.29[1)]	A[2)]
Control	6	41.00±2.46	B
Sample I	6	57.83±3.27	A
Sample II	6	50.66±1.85	A
F-value		8.00	

1) Mean ± Standard error of 6 rats
2) The same letter is not significantly different at the α=0.05 level by Duncan test
Normal : Untreated group.
Control : MTX administered group.
Sample I : *Samchulkunbitang* administered group.
Sample II : MTX and *Samchulkunbitang* administered group.

Fig. 10. Effects of *Samchulkunbitang* administration on the axillary lymph node CD4+ T cell count of rats



Ⅳ. 考察

韓醫學에서 免疫과 關聯되는 自己와 非自己의 區別에 대한 文獻的 記錄은 없으나, 正氣와 邪氣의 槪念에서 類似한 意味를 찾을 수 있다. 黃帝內經 素問[5] 「刺法論」에 "正氣存乃 邪不可干", 「上古天眞論」에 "虛邪賊風 避之有時 恬淡虛無 眞氣從之 精神內守 病安從來", 靈樞[20] 「邪氣臟腑病形編」에 "臟氣實 邪氣入而不能客.....陰陽具虛邪乃得生"이라 하여 外部의 虛邪, 大風, 毒氣에 對抗하는 正氣, 眞氣, 臟氣를 言及하며, 正氣가 있으면 邪氣가 侵入하여도 發病하지 않거나, 發病하여도 그 정도가 平易하다는 等의 說明과 충분히 符合되는 것이다.

蔘朮健脾湯은 許[11]의 東醫寶鑑에 健脾養胃하고 飮食을 運化하는 效能으로 收錄된 이후 많은 醫家들[11,13-18]에 의해 活用되어 왔다.

方劑의 構成은 人蔘, 白朮, 白茯苓, 厚朴, 陳皮, 山査, 枳實, 白芍藥, 神曲, 麥芽, 砂仁 및 甘草로 構成되어 있으며 個別 藥物의 效能은 다음과 같다[21-24].

人蔘은 甘微苦溫하여 大補元氣 補肺益脾 生津 安神하는 效能이 있어 脾胃虛弱 倦怠乏力 食慾不振 胸腹脹滿 食少 反胃吐食 大便滑泄 驚悸 健忘 一切氣血津液不足之證에, 白朮은 苦甘溫하며 補脾益胃 燥濕和中 利水 止汗 安胎作用이 있어 脾胃虛弱 食少脹滿 倦怠乏力 泄瀉 痰飮 不思飮食 水腫 黃疸

濕痺 自汗 小便不利 胎氣不安에, 白茯苓은 甘淡平하여 利水滲濕 健脾和中 寧心安神作用이 있어 食少脘悶 小便不利 水腫脹滿 便溏泄瀉 痰飮停滯 咳逆嘔噦 遺精 淋濁 驚悸 健忘 等에 使用한다. 厚朴은 苦辛溫하며 燥濕散滿 行氣降逆 消痰下氣의 效能이 있어 濕阻腸胃 脘腹脹滿 胸腹脹滿 反胃嘔吐 宿食不消 痰飮喘咳 寒濕瀉利 等에, 陳皮는 辛苦溫하여 理氣健脾調中 燥濕化痰 宣通疎利하므로 脾胃氣滯 脘腹脹滿 惡心嘔吐 消化不良 痰濕壅滯 胸膈滿悶 不思飮食에, 山査는 酸甘微溫하여 消食化積 散瘀行滯 破氣 化痰의 作用이 있어 食積停滯 油膩肉積 腹痛泄瀉 痰飮痞滿 呑酸 小兒乳食停滯 等에 使用한다. 枳實은 苦寒하여 破氣消積散瘀瀉痰飮痞하므로 飮食不消 胸腹脹滿 脾胃積滯 腹痛便秘 胸痺 痞痛 水腫 泄利不暢에, 白芍藥은 苦酸凉하며 養血斂陰 柔肝止痛 平肝陽의 效能이 있어 脇痛 腹痛 胸痛 瀉利腹痛 自汗 盜汗 陰虛發熱 月經不調 崩漏帶下에, 神麴은 甘辛溫하며 消食和胃 健脾調中하므로 食積不化 脘腹脹悶 消化不良 泄瀉 嘔吐 産後瘀血腹痛 小兒腹大堅積 等에 使用한다. 麥芽는 甘酸溫하며 消食化中 回乳下氣의 效能이 있어 飮食不化 脘悶腹脹 脾胃虛弱 食慾不振 嘔吐 泄瀉 乳脹不消에, 砂仁은 辛溫하며 化濕醒脾 和胃 行氣寬中 安胎의 效能이 있어 脾氣滯 胸脘脹滿 濕阻脾胃 腹痛泄瀉 胃呆食滯 噎膈嘔吐 寒瀉冷痢 惡阻에, 甘草는 甘平하며 補中益氣 瀉火解毒 潤肺祛痰 緩和藥性의 效能이 있어 脾胃虛弱 氣血不足 食少 腹痛便溏 勞倦 肺萎咳嗽 心悸 咽喉腫痛 癰疽瘡瘍 中毒 等에 사용한다.

蔘朮健脾湯에 대하여 李[12]는 四君子湯과 平胃散의 複合處方에 蒼朮을 除去하고 山査 枳實 白芍藥 砂仁 神曲 및 麥芽 등을 配合한 것이라 하였는데, 이는 四君子湯의 甘溫 益氣 健脾養胃하는 效能와 平胃散의 燥濕 健脾和中 除滿하는 效能에 山査 神曲 麥芽 枳實 砂仁 白芍藥 等의 消食 破氣 和胃 養血시키는 藥物을 加하여 食傷補益之劑임을 說明하는 것이라 할 수 있다. 그 후, 歷代 醫家들[6-10]에 의하여 食傷 胃弱 食慾不振 消化不良 心下痞塞 腹部膨滿感 腹直筋의 弛緩과 같은 症狀에 脾胃腸과 元氣를 補하고 消化를 促進시키는데 使用되었다.

MTX는 細胞媒介反應의 抑制劑로서 folic acid와 構造上 유사하여 folic acid의 拮抗物質로 작용하므로 folic acid에서 folinic acid로의 轉換에 관여하는 folic acid reductase를 저해하여 folinic acid로 還元되는 것을 抑制함으로써 DNA合成을 抑制하기 때문이며, 生體에 있어서 folinic acid 缺乏을 일으키며, 특히 白血球 減少현상이 顯著하다[1,32]. 小兒의 急性白血病과 淋巴腫의 治療에 有效하며, 惡心, 嘔吐, 泄瀉, 脫毛, 아프타성 口腔炎, 皮膚發疹, 骨髓抑制와 같은 毒作用을 나타낸다[33].

최근 免疫에 관한 實驗的 報告로는 免疫機能을 亢進시키는 藥材로 靈芝[34], 人蔘[35], 鹿茸[36], 熟地黃, 五加皮[37], 魚腥草 및 桑菊飮[38], 消積白朮散[39] 等이 있으며, 文 等[40]은 當歸抽出物이 B 細胞의 增殖과 抗體生成의 效果가 있고,

趙 等[41]은 數種의 補虛藥이 免疫을 增加하는 效果가 있다고 報告하고 있으나, 蔘朮健脾湯에 대해서는 아직 없었다.

이에 著者는 免疫機能에 蔘朮健脾湯이 미치는 影響에 관하여 살펴보고자 흰쥐를 對象으로 MTX로 免疫反應低下를 誘發시킨 對照群과 蔘朮健脾湯을 單獨投與한 實驗群Ⅰ과 蔘朮健脾湯과 MTX를 混合投與한 實驗群Ⅱ에서 體重減少率과 胸腺, 脾臟, 兩側 腋窩淋巴節의 무게와 血液 및 胸腺, 脾臟, 腋窩淋巴節에서의 淋巴球數와 CD4+ T細胞數를 測定하여 比較, 觀察하였다.

體重減少率을 살펴보면 正常群이 -0.003±0.07%, 對照群이 22.22±0.58%, 實驗群Ⅰ이 1.15±0.49%, 實驗群Ⅱ는 11.11±1.44%로 實驗群Ⅰ과 實驗群Ⅱ에서 모두 有意性이 있게 增加하였으며, 實驗群間에서도 有意한 差異를 나타내었는데, 이는 蔘朮健脾湯이 MTX에 의한 細胞 損傷을 抑制시키는 作用을 하는 것으로 생각된다. 實驗群Ⅰ에서 正常群에 비해 有意性은 없었지만 體重減少가 나타났는데 이는 蔘朮健脾湯이 細胞에 대해 毒性作用이 있어서라기보다는 藥物 投與 自體가 하나의 急性 스트레스 因子로 作用하여 나타나는 現象으로 생각된다.

免疫 個體의 발생은 血球의 幹細胞가 卵黃囊에 나타남으로써 시작되는데 胎生 2個月 무렵이 되면 造血의 主體가 肝으로 옮겨지게 된다. 이들 臟器에서의 造血은 주로 赤血球인데 여기서 만들어진 幹細胞가 胸線으로 운반되는 淋巴球의 기원이 된다고 생각된다. 胸線에서 淋巴球가 다량 나오게 되며, 잇달아 脾臟 및 淋巴節이 발달한다. 造血巢는 차차 骨髓로 국한되지만 胸線이나 脾臟 및 淋巴節에서는 出生 後에도 계속 淋巴球가 생산된다[1].

이에 본 實驗에서는 胸線, 脾臟 및 腋窩淋巴節의 무게를 測定하여 살펴보았는데, 胸腺에서는 正常群이 0.490±0.044g, 對照群이 0.216±0.018g, 實驗群Ⅰ이 0.665±0.061g, 實驗群Ⅱ가 0.310±0.035g으로 實驗群Ⅰ과 實驗群Ⅱ에서 모두 對照群에 비해서는 有意性이 있는 增加를 보였으며, 實驗群間에서도 차이를 나타내었고, 脾臟에서는 正常群이 1.223±0.015g, 對照群이 0.650±0.087g, 實驗群Ⅰ이 1.145±0.206g, 實驗群Ⅱ가 0.688±0.150g으로 實驗群Ⅰ에서만 對照群에 비해 有意性이 있는 增加를 보였고, 腋窩淋巴節에서는 正常群이 0.110±0.015g, 對照群이 0.067±0.008g, 實驗群Ⅰ이 0.090±0.011g, 實驗群Ⅱ가 0.068±0.015g으로 實驗群Ⅰ과 實驗群Ⅱ에서 모두 有意性이 없었다. 이는 蔘朮健脾湯이 다른 免疫臟器에 비해 胸腺에서 강하게 作用하여 나타난 結果인지, 實驗群 選擇의 誤謬에서 起因한 것인지 본 實驗만으로는 알 수 없고, 좀 더 구체적인 硏究가 필요하다고 생각된다.

免疫系는 淋巴球, 大食細胞, 白血球, 補體, 抗體, lymphokine 等 여러종류의 因子로 構成되어 있고, 免疫反應은 細胞性免疫과 體液性免疫으로 나누어진다. 體液性免疫은 抗原特異性因子인 抗體에 의하여 이루어지고, 細胞보다는 血淸에 존재하며 이러한 抗體는 T

cell의 도움을 받아서 B cell에 의하여 産生된다. 細胞性免疫反應은 주로 감작된 T cell에 의하여 이루어지며, 경우에 따라서는 淋巴球, 多核白血球, 大食細胞 등이 관여한다[1,25,26].

淋巴球數에 관하여 살펴보면, 血液에서는 正常群이 163.00±17.03(×10^5/mℓ), 對照群이 72.16±5.11(×10^5/mℓ), 實驗群Ⅰ이 132.00±24.47(×10^5/mℓ), 實驗群Ⅱ가 88.66±7.31(×10^5/mℓ)으로 實驗群Ⅰ에서는 對照群에 비해 有意性이 있는 增加를 보였고, 胸腺에서도 正常群이 687.20±12.89(×10^6/mℓ), 對照群이 252.83±28.17(×10^6/mℓ), 實驗群Ⅰ이 681.73±60.05(×10^6/mℓ), 實驗群Ⅱ가 240.66±49.04(×10^6/mℓ)으로 實驗群Ⅰ에서만 對照群에 비해 有意性이 있는 增加를 나타내었다. 그리고, 脾臟에서도 正常群이 287.33±22.75(×10^6/mℓ), 對照群이 128.33±6.20(×10^6/mℓ), 實驗群Ⅰ이 243.16±20.72(×10^6/mℓ), 實驗群Ⅱ가 164.66±16.77(×10^6/mℓ)로 實驗群Ⅰ에서만 對照群에 비해 有意性이 있는 增加를 나타내었고, 腋窩淋巴節에서도 正常群이 91.98±2.29(×10^5/mℓ), 對照群이 46.61±3.41(×10^5/mℓ), 實驗群Ⅰ아 72.36±11.20(×10^5/mℓ), 實驗群Ⅱ가 53.11±8.43(×10^5/mℓ)로 實驗群Ⅰ에서는 對照群에 비해 有意性이 있는 增加를 보였다.

CD4+ T 淋巴球 細胞는 細胞表面에 CD+4를 認識하는 수용체를 가지고 있으며 補助 T細胞라고 하기도 한다. 이 細胞는 抗原을 認識하면 免疫分泌物質들을 分泌하여 T細胞의 生産根據地인 클론을 刺戟하여 T細胞 分化를 활발하게 하고, B細胞를 자극하여 抗體를 많이 만들어 分泌하게 하는 중요한 免疫能力을 발휘한다[27]. 최근 Henry Masur 등[28-30]의 硏究에 의해 機會感染을 쉽게 받는 사람들의 血液에서 얻은 標本의 CD4+ T 細胞數가 줄어들어 있다는 사실이 밝혀지면서 CD4+ T 細胞數의 計測이 免疫能力의 低下와 그에 따른 治療藥物의 投與與否나 治療時期를 결정하는 指標로 쓸 價値가 認定되고 있다[31].

CD4+ T細胞率에 관하여 살펴보면, 血液 중에서는 正常群이 57.66±2.98%, 對照群이 37.16±1.42%, 實驗群Ⅰ이 48.33±1.38%, 實驗群Ⅱ가 46.16±1.47%로 實驗群Ⅰ과 實驗群Ⅱ에서 모두 對照群에 比해서는 有意性이 있는 增加를 보였으나, 實驗群間의 有意한 差異는 없었고, 胸腺에서도 正常群이 57.16±1.49%, 對照群이 47.16±1.32%, 實驗群Ⅰ이 60.83±3.17%, 實驗群Ⅱ가 58.00±1.86%로 實驗群Ⅰ과 實驗群Ⅱ에서 모두 對照群에 비하여 有意性이 있는 增加를 보였으나, 實驗群間의 有意한 差異는 없었다. 그리고, 脾臟에서는 正常群이 43.00±4.16%, 對照群이 31.00±6.06%, 實驗群Ⅰ이 42.00±3.65%, 實驗群Ⅱ가 42.00±4.72%로 實驗群Ⅰ과 實驗群Ⅱ 모두 增加하는 경향을 나타내었으나, 有意性이 있는 변화는 없었고, 腋窩淋巴節에서는 正常群이 53.50±2.29%, 對照群이 41.00±2.46%, 實驗群Ⅰ이 57.83±3.27%, 實驗群Ⅱ가 50.66±1.85%로 實驗群Ⅰ과 實驗群Ⅱ에서 모두 對照群에 비하여 有意性이 있는 增加를 보였으나, 實驗

群間의 有意한 差異는 없었다.

淋巴球數와 CD4+ T細胞率의 計測을 살펴보면 實驗群Ⅱ에서 淋巴球數에서는 有意性이 없었으나 CD4+ T細胞率에서는 有意性을 나타내었다. 이는 全 淋巴球 中 CD4+ T細胞의 比率이 全般的으로 增加된 것으로 蔘朮健脾湯이 抗體의 生成能을 增加시켜 免疫調節 作用을 하는 것으로 생각된다.

최근 腫瘍의 治療法 중 化學療法의 副作用을 減少시키기 위하여 韓藥을 同時에 投與하는 中西醫 結合治療가 試圖되고 있다[42]. 化學療法 副作用의 臨床症狀別 分布를 살펴보면 食慾不振, 全身無力, 惡心, 不安, 嘔吐, 消化不良 등 주로 消化器症狀과 無氣力으로 報告되고 있다[43]. 이는 蔘朮健脾湯의 適應症에 해당되며, 以上의 實驗結課를 종합하여 보면 蔘朮健脾湯은 MTX로 誘發된 免疫機能低下에 대해 免疫作用增强의 效果가 있다고 보여지므로, 腫瘍 治療에 있어 高年齡者나 體力低下가 심한 자, 또는 副作用으로 化學療法을 持續하기 어려운 경우에 蔘朮健脾湯을 竝用 投與해 볼만한 價値가 있다고 생각된다.

Ⅳ. 結論

蔘朮健脾湯이 免疫機能에 미치는 影響에 관하여 살펴보고자 흰쥐에 MTX로 免疫機能低下를 誘發시킨 對照群과 蔘朮健脾湯 單獨投與群과 蔘朮健脾湯과 MTX 混合投與群에서 體重減少率와 胸腺, 脾臟, 兩側 腋窩淋巴節의 무게와 血液 및 胸腺, 脾臟, 腋窩淋巴節에서의 淋巴球數와 CD4+T細胞率을 測定하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 體重減少率은 蔘朮健脾湯 單獨投與群과 蔘朮健脾湯과 MTX 混合投與群에서 모두 有意性이 있는 增加를 보였으며, 實驗群間에서도 有意한 差異를 나타내었다.
2. 胸腺 무게는 蔘朮健脾湯 單獨投與群과 蔘朮健脾湯과 MTX 混合投與群에서 모두 有意性이 있는 增加를 보였으며, 實驗群間에서도 有意한 差異를 나타내었다. 脾臟 무게는 蔘朮健脾湯 單獨投與群에서만 有意性이 있는 增加를 보였다. 腋窩淋巴節 무게는 蔘朮健脾湯 單獨投與群과 蔘朮健脾湯과 MTX 混合投與群 모두에서 有意性이 있는 변화가 없었다.
3. 淋巴球數는 胸腺, 脾臟, 腋窩淋巴節 및 血液에서 蔘朮健脾湯 單獨投與群에서만 有意性이 있는 增加를 보였다.
4. CD4+ T細胞率은 脾臟을 제외한 胸腺, 腋窩淋巴節 및 血液에서 蔘朮健脾湯 單獨投與群과 蔘朮健脾湯과 MTX 混合投與群이 모두 有意性이 있는 增加를 보였다.

參考文獻

1. 菊地浩吉 等 : 最新免疫學. 서울. 集文堂, 1993, p.39, 53.
2. 김세종 : 免疫學. 서울. 高麗醫學. 1994, p.9, 144.
3. 鄭泰浩 : 最新免疫學講義. 대구. 慶北大學校出版部, 1996, pp.6-15, 186-199.
4. 文濬典 等 : 東醫病理學. 서울. 高文社, 1990, pp.27-29, 78-80.
5. 洪元植 : 精校黃帝內經素問. 서울. 東洋醫學研究院出版部, 1985, p.11, 23, 44, 285.
6. 안덕균 譯 : 免疫과 韓方. 서울. 열린책들, 1994, pp.19-21, 23-27, 67-73.
7. 劉正才 尤煥文 編著 : 中醫免疫. 四川省. 重慶出版社, 1983, pp.8-10, 54-60.
8. 張梓荊 主篇 : 中西醫結合研究從書. 上海. 上海科學技術出版社. 1988, pp.29-37.
9. 陳奇 主篇 : 中藥藥理研究方法學. 北京. 人民衛生出版社, 1993, pp.703-704, 1003, 1008.
10. 韓先達 : 試論中醫治則與免疫調節. 浙江省. 浙江中醫學院報, 1991, pp.8-9.
11. 許浚 : 東醫寶鑑. 서울. 南山堂, 1983, pp.429-431.
12. 李尙仁 等 : 方劑學. 서울. 癸丑文化社, 1984, p.35, 228.
13. 康命吉 : 濟衆新篇. 서울. 杏林書院, 1982, p.41.
14. 朴炳昆 : 韓方臨床四十年. 서울. 大光文化社, 1984, p.134, 136.
15. 廉泰煥 : 東醫處方大典. 서울. 杏林書院, 1975, p.292.
16. 李基淳 : 韓方內科學. 서울. 壽文社, 1982 p.302, 306.
17. 李相漸 : 韓方處方解說과 應用妙結. 서울. 書苑堂, 1983, p.92, 95.
18. 周命新 : 醫門寶鑑. 서울. 杏林書院, 1975, pp.110-111.
19. 金秀雄 等 : 蔘朮健脾湯액기스散이 白鼠의 胃液分泌 및 腸管輸送能에 미치는 影響. 大邱. 大邱韓醫科大學論文集 第5集, 1987, pp.1-13.
20. 洪元植 : 精校黃帝內經靈樞. 서울. 東洋醫學研究院出版部, 1985, p.36,222, 317.
21. 陸昌洙 等 : 韓藥의 藥理 成分 臨床應用. 서울. 癸丑文化社, 1982, p.322, 453, 550, 558, 563, 568, 663, 691, 693, 695, 742, 894, 896, 898.
22. 李尙仁 : 本草學. 서울. 修書院. 1985, p.51, 56, 58, 87, 103, 203, 281, 348, 354, 380, 381, 393, 399.
23. 上海中醫學院篇 : 中草藥學. 香港. 商務印書官, 1983, p.42, 221, 223, 227, 350, 354, 453, 454, 456, 512, 520, 524, 525, 566.
24. 李時珍 : 本草綱目(第1,2,3,4冊). 北京. 人民衛生出版社, 1978, p.691, 702, 734, 850, 1621, 1756, 1774, 1789, 2079, 2146.
25. 강두희 : 生理學. 서울. 신광출판

사. 1988, 12-1, 13-80, 15-30.
26. 서울大醫科大學篇 : 면역학. 서울. 서울대학교출판부, 1988, pp.1-18.
27. Roitt et al : Immunology 4th edition. London. 1996, 1,1-1,12.
28. Henry Masur et al : CD4 Counts a Predictors of Opportunistic Pneumonias in Human Immunodeficiency Virus Infecion. Annals of Inter Medicine. 1989, 111:223-231.
29. Karina M. Butler et al : CD4 Status and P24 Antigenemia. AJDC. 1987, 146:932-330.
30. Maaten Koot et al : Prognostic Value of Hiv-1 Syncytiumindu cing Phenotype for Rate of CD4+ T cell Depletion and Progression to AIDS. Ann Int Med. 1993, 118:681-688.
31. Lui K.J. et al : A modxl-based estimate of the mean incubation period for AIDS in homosexual men. Science. 1988, 240: 1333-1335.
32. 한대섭 : 약리학. 서울. 약사연구사, 1976, pp.362-363.
33. 국영종 역 : 고오스약리학. 서울. 범문사, 1986, p.704.
34. 林사비나, 李惠貞 : 靈芝水鍼이 寒冷刺戟으로 低下된 생쥐의 免疫機能에 미치는 影響. 大韓韓醫學會誌. 1992, 13(1):71-84.
35. 金大洙 : 三種의 製法에 따른 人蔘水鍼이 methotrexate를 投與한 생쥐의 免疫反應에 미치는 影響. 慶熙醫學. 1989, 5(1):97-105.
36. 黃慶愛 : 人蔘 및 鹿茸水鍼이 時間經過에 따른 免疫效果硏究, 慶熙醫學. 1988, 4(2):150-157.
37. 高炳熙 : 鹿茸, 熟地黃, 人蔘, 五加皮가 免疫反應 및 NK細胞活性度에 미치는 影響. 慶熙韓醫大論文集. 1986, 9:193-215.
38. 吉永星,鄭昇杞,李珩九 : 魚腥草 및 桑菊飮이 免疫機能에 미치는 影響. 大韓韓醫學學會誌. 1995, 16(1):295-318.
39. 趙成基,趙鍾寬 : 消積白朮散의 抗癌免疫增强效果 및 cisplatin의 腎臟毒性抑制에 미치는 影響에 關한 硏究. 大韓韓醫學會誌. 1993, 14(2):281-309.
40. 문은이 等 : 당귀추출물이 면역계에 미치는 영향II. 대한면역학회지.1991, 13(1):71-77.
41. 趙連根 等 : 無幾類補益藥對機體防禦機能作用的比較硏究. 北京. 中醫雜誌. 1990, 31(4):52.
42. 張宗岐 : 臨床腫瘤綜合治療大全. 北京. 奧林匹克出版社. 1995, pp. 33-42.
43. Korea oriental medical association : (Abstract) The 8th congress of oriental medicine. seoul. 1995, p.262.