

逍遙散煎湯液이 Stress負荷 생쥐의 免疫抑制에 미치는 影響

圓光大學校 韓醫學科大學 內科學教室

金 在 燮

I. 緒論

現代 社會에 있어서 人間은 文明이 發達함에 따라 점차 複雜한 環境에 處하게 되었으며, 產業의 發達로 말미암아 生活이 便利해진 反面에 이에 隨伴되는 各種 스트레스를 誘發하는 環境에 露出되게 되었다.

스트레스를 유발하는 要因은 寒冷, 騒音, 振動 등의 物理的 要因, 藥物, 飢餓, 過食, 비타민不足 등의 化學的 要因, 細菌, 寄生蟲 등의 生物學的 要因, 精神的 刺戟과 過勞 등의 內部的 要因으로 구분되는데, 다양한 狀況들이 스트레스를 만들어 낼 수 있다¹⁻³⁾. 스트레스를 誘發시키는 因子를 stressor라 하는데, stressor가 加해지면 生體는 一般適應症候群(general adaptation syndrome)이라 불리는 非特定的인 全身反應을 일으킨다^{1, 4-6)}. 一般適應症候群은 세 가지 段階로 構成되어 있는데 첫 번째는 警告反應期(stage of alarm reaction)로 stressor에 대해 卽刻的인 反應을 하는 시기로, 遲脈·筋力低下·體溫下降·血壓下降 등 典型的인 多様な 傷害의 症候들이 나타난다. 두 번째는 抵抗期(stage of resistance)로, 器官이 완전히 stressor에 適應해서 症候가 사라지며 現在의 stressor 이외의 다른 stressor에는 抵抗力이 弱화된다. 이 때는 腦下垂體 前葉에서 ACTH가 分泌되고 副腎皮質에서 cortisol이 過多하게 分泌되어 免疫體系가 崩壞된다. 세 번째는 疲弊期(stage of exhaustion)로, stressor가 심하고 오래 持續되어 適應力에 限界가 와서 다시 症候

가 發現되어 生體 內에 여러 가지 異常症狀을 나타내게 되며 stressor가 줄어들거나 없어지지 않으면 죽음에까지 이르게 된다¹³³⁾.

韓醫學에서는 心身一如, 神形一體라 하여 精神과 肉體를 不可分의 關係로 보고 있으며^{2-3, 11)}, 外來的 刺戟을 통하여 生體外的 精神形徵으로 나타나는 것은 七情으로 表現되며, 이것은 五臟과 密接한 關係를 가지고 있어서 七情이 지나치면 生理變化에 影響을 미쳐서 疾病이 發生한다고 理解하고 있다^{1, 3, 12-15)}.

또한 五臟 中에서 肝은 疏泄作用을 하는데, 疏泄이란 升發透泄의 뜻으로서, 全身의 氣機를 通暢시키는 것이다. 만약 精神이 抑鬱되면 肝氣가 鬱結되며 심하면 氣血의 流行에 影響을 주어 疼痛이 發生하게 된다. 肝은 또한 脾胃의 消化機能과 運化機能을 補助하며, 女性의 月經과 男性의 排精 또한 肝의 疏泄과 關係가 있다⁴⁰⁻⁴²⁾. 이러한 肝의 疏泄作用은 人體에서 氣機의 升降 및 調節作用에 關與하며, 七神 中에서 肝과 關聯된 魂은 情緒活動面에서의 變化와 密接한 關聯이 있어서, 肝氣의 鬱結은 抑鬱과 興奮의 精神反應과 身體症狀을 나타내게 된다¹⁶⁻²⁰⁾.

逍遙散은 《太平惠民和劑局方》²¹⁾에 처음 記錄된 이래 疏肝解鬱과 健脾和營하는 效能이 있어서 肝鬱血虛, 兩脇作痛, 寒熱往來, 頭暈目眩, 口燥咽乾, 神疲食少, 月經不調, 乳房作脹, 脈弦而虛 등의 諸般 症狀에 많이 應用되고 있다²²⁻³³⁾.

지금까지 逍遙散에 대한 研究로는 崔³⁴⁾의 逍遙散 效能에 대한 實驗的 研究, 許³⁷⁾의 回轉能에 關한 研究, 金³⁸⁾의 스트레스로 인한 乳汁過多分

泌에 미치는 影響이 있었으며, 逍遙散加味方에 대한 研究로는 鎮痛, 消炎 및 女性癌細胞에 대한 實驗的 研究³⁵⁾, 腫瘍에 미치는 影響³⁶⁾, 抗스트레스에 대한 實驗的 研究³⁹⁾ 등이 있었으나, 逍遙散이 스트레스로 인한 免疫抑制에 미치는 影響에 대한 研究는 없었다.

이에 著者는 逍遙散 煎湯液의 投與가 스트레스로 인해 誘發된 생쥐의 免疫抑制와 스트레스 호르몬의 濃度에 미치는 影響에 대해서 觀察하기 위하여 逍遙散을 前 投與하고 騒音 스트레스를 加한 후 體重의 變化, 生體內 및 生體外에서 大食細胞의 食食能의 變化, 大食細胞의 反應酸素 및 窒素 中間物質의 形成에 미치는 影響, 細胞性 免疫反應, T 細胞의 亞型에 미치는 影響, 綿羊赤血球에 대한 凝集反應, 細胞毒性 및 스트레스와 관련된 호르몬의 濃度에 미치는 影響 등을 觀察하여 有意性 있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 材料

1) 動物

8~10週 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 密度를 維持하였으며, 2週日間 室溫에서 물과 飼料(제일사료 주식회사)를 충분히 供給하고, 낮과 밤의 週期를 12시간씩 調節하면서 飼育한 다음 本 實驗에 使用하였다.

2) 藥材

本 實驗에 使用한 藥材는 圓光大學校 光州韓方病院에서 購入한 後 精選하여 使用하였고, 處方의 內容은 黃²⁷⁾에 準하였으며 한첩 分量은 다음과 같다.

Prescription of Soyosan

本草名	生藥名(學名)	重量(g)
	RHIZOMA ATRACTYLODIS	
白朮	MACROCEPHALAE (<i>Atractylodes macrocephala</i>)	3.75
白芍藥	RADIX PAEONIAE ALBA (<i>Paeonia lactiflora</i>)	3.75
白茯苓	PORIA(<i>Poria cocos</i>)	3.75
	RADIX BUPLEURUM	
柴胡	FALCATUM (<i>Bupleurum chinense</i>)	3.75
	RADIX ANGELICAE SINENSIS	
當歸	(<i>Angelica gigas</i>)	3.75
	RADIX OPHIOPOGONIS	
麥門冬	(<i>Ophiopogon japonicus</i>)	3.75
	RADIX GLYCYRRHIZAE	
甘草	(<i>Glycyrrhiza uralensis</i>)	1.875
	HERBA MENTHAE	
薄荷	(<i>Mentha arvensis</i>)	1.875
Total amount		26.25

3) 抗原⁴³⁻⁴⁵⁾

胸腺 依存性 抗原으로 使用한 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 後 同量의 Alsever 氏液(pH 6.1)을 加하여 4℃에서 보관하면서 4주 以內에 使用하였으며, 보관 중인 綿羊赤血球를 使用할 때는 使用直前에 滅菌한 phosphate buffered saline: PBS(pH7.2)로 2-3回 洗滌하여 1×10⁸ cell의 濃度로 적정한 후 使用하였다.

2. 方法

1) 檢液의 調製

上記 逍遙散을 성인 분량(26.25g/60kg/1회)을 기준으로 하여 逍遙散 26.25g을 2000ml round flask에 넣고 蒸溜水 620ml를 加하여 100℃로 4時間 동안 重湯하여 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 重湯하여 100ml(1×)씩으로 濃縮하여 檢液으로 使用하였다.

2) 騒音 stress 暴露

마우스 5마리를 1群으로 하며 實驗群에는 逍遙散을 經口的으로 투여한 후 對照群과 함께 騒音의 強度가 90~95 dB이 되는 環境 中에 12 시간 露出시켰다.

3) 檢液의 投與

(1) 生體內 實驗

각각의 檢液投與群에서는 檢液을 생쥐 1마리 당 逍遙散(SYS)을 1×와 5×로 하여 1日 1回 씩 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

정상 마우스의 大食細胞를 分離한 후 각각의 檢液을 分離된 大食細胞에 처리한 후 6時間 培養하였다.

4) 大食細胞의 食食能 分析⁴⁶⁻⁵⁵⁾

(1) 大食細胞의 誘導 및 分離

檢液 投與 14日된 實驗群 생쥐의 상피를 切開한 後에 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 食食能 分析에 使用하였다.

(2) 大食細胞의 食食能 分析

大食細胞의 食食能 測定은 FITC로 라벨된 polystyrene latex particle(1.88 μ m, Polysciences, Warrington)을 使用하였다. 5% fetal bovine serum이 添加되어 있는 RPMI 1640 medium에 1×10⁶개의 大食細胞와 5×10⁷개의 fluorescent latex particle 50 μ l를 添加한 후 95% O₂와 5% CO₂ 및 濕氣가 充分한 培養器에 45分間 37°C에서 培養하였다. 培養 後 2ml의 cold HBSS를 添加한 후 400g(gravity)로 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 食食能은 流式細胞分離分析器로 測定하였다. 488nm 세기로 發光된 argon-ion laser beam 200mW 出力에서 分析되

었으며, 綠色螢光物質은 530nm의 band pass filter에서 選擇的으로 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 食食能 測定은 다음 公式에 따랐다.

$$\text{Phagocytic Activity(\%)} = \frac{\text{TE}_0 - \text{TE}_{45}}{\text{TE}_0} \times 100$$

TE₀ = FITC로 라벨된 latex particle(5×10⁷) 과 大食細胞(1×10⁶)를 0時間 培養 후 latex particle의 數.

TE₄₅ = FITC로 라벨된 latex particle(5×10⁷) 과 大食細胞(1×10⁶)를 45分間 培養 후 latex particle의 數.

5) 大食細胞의 反應酸素中間物質(reactive oxygen intermediate: ROI) 生成能의 測定⁵²⁻⁵⁴⁾

(1) 腹腔大食細胞의 誘導

i) 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 2回 洗滌한 후 veronal buffered saline(Ca²⁺, Mg²⁺, albumin, glucose 포함)에 5×10⁶cells/300 μ l가 되도록 적정한 후 chemiluminescence(CL)를 測定하였다.

ii) 生體外 實驗

정상 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. 逍遙散을 각각의 濃度로 添加하여 6時間 培養後에 細胞를 harvest하여 차가운 PBS로 400g에서 10分間 遠心分離하여 2回 洗滌한 후 veronal buffered saline(Ca²⁺, Mg²⁺, albumin, glucose 포함)에 5×10⁶cells/300 μ l가 되도록 적정한 후 CL을 測定하였다.

(2) Lucigenin에 의해 誘導된 CL의 測定

Veronal buffered saline을 이용해 5×

10^6 cells/300 μ l로 적정된 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 安定化 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 CL을 測定하였다.

(3) Luminol에 의해 誘導된 CL의 測定

Veronal buffered saline을 이용해 5 \times 10^6 cells/300 μ l로 적정된 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 安定化 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 CL을 測定하였다.

6) 培養中인 大食細胞에서 反應窒素中間物質(reactive nitrogen intermediate: RNI) 生成能 測定⁵⁶⁻⁵⁸⁾

RNI는 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의 免疫反應에 重要한 役割을 하는 것으로 알려져 있다.

RNI는 NO_2^- , NO_3^- , 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.

藥物을 투여한 생쥐의 腹腔大食細胞를 分離한 後 96 well plate에 well당 1~2 $\times 10^5$ 개로 넣어 주었다. γ -IFN이나 LPS, 또는 γ -IFN+LPS, 逍遙散을 各各의 濃度에 따라 培養細胞에 添加하고 48時間 동안 培養 한 後에 각 well로부터 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-naphthylethylenediamine 0.1% in H_2O , sulfanilamide 1% in 5% H_3PO_4)를 添加하고 10分間 室溫에 두었다. 全體 RNI TiterTek Multiscan MCC/340(Flow Lab)으로 540nm에서 吸光度를 測定하였다. 이때 RNI濃度에 對한 표준 곡선은 $NaNO_2$ 를 연속 희석하여 얻었다.

7) Rosette 形成細胞 測定^{43-45, 59-60)}

Rosette 形成細胞(rosette forming cell: RFC)의 測定은 Bach等의 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(2개체 혼합)을 摘出した 후 Ficoll-paque를 利用하여 400g(gravity)로 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 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 $^{\circ}$ C에서 30分 동안 培養하였다. 그 후 冷却된 15ml의 HBSS를 계속해서 注射器에 注入하여 通過시켰다. 이와 같이 準備된 淋巴球를 1 $\times 10^6$ 細胞로 滴定한 후 1 $\times 10^7$ SRBC를 混合하여 37 $^{\circ}$ C에서 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 $^{\circ}$ C 暗冷狀態에서 12時間 以上 保管한 후 400 \times 顯微鏡視野에서 淋巴球 한개당 3개 이상의 SRBC가 附着된 것을 檢鏡하여 決定하였다.

8) T 細胞 亞型分析^{46, 61-62)}

(1) 單核細胞 分析

檢液 투여 14日 된 생쥐의 末端에 存在하는 림프절을 떼어낸 후 3ml의 HBSS(Ca^{2+} , Mg^{2+} -free)가 들어 있는 Petri-dish(diameter 30mm)에 옮겨 슬라이드 글라스로 으개어 單液 浮遊液을 만든 다음 mesh를 通過시켜 單細胞 浮遊液을 얻었다. 單細胞의 分離는 ficoll-paque를 使用하여 400g(gravity) 10 $^{\circ}$ C에서 10分 동안 遠心分離시켰다. 分離된 單核細胞

는 PBS(pH 7.2)로 3회 洗滌하여 단크론 抗體의 結合에 使用하였다.

(2) T細胞 亞群과 단크론 抗體의 結合

단크론 抗體는 helper/inducer T細胞를 認知하는 anti-mouse L3T4 (CD4⁺)와 suppressor/cytotoxic T細胞를 認知하는 anti-mouse Lyt2(CD8⁺)를 使用하였다. 이들 단크론 抗體와 T細胞 亞群의 結合을 위해 단크론 抗體를 1×10^5 개의 單細胞 浮遊液 50 μ l에 混合한 후 4 $^{\circ}$ C 暗冷 場所에서 30분간 反應시켰다. 反應후 2ml의 cold PBS로 洗滌하였다.

(3) 流式細胞 分離 分析

Anti-L3T4(綠色螢光物質; fluorescein isothiocyanate; FITC)/anti-Lyt2(赤色螢光物質; phycoerythrin; PE) 抗體를 混合하여 二染色 方法(two-color analysis)을 이용하였다. 단크론 抗體에 染色된 單細胞 浮遊液의 림프구 亞群은 488nm세기로 발광된 argon-ion laser beam 200mW 출력에서 分析하였다.

螢光物質의 螢光 信號는 綠色發光이 530nm에서, 赤色發光이 575nm의 band pass filter에서 선택적으로 透過되어 각각 感知되었다. 單細胞 浮遊液에서 림프구 이외의 細胞는 레이저 빛의 散亂에 의하여 細胞의 情報를 提供하는 前方감지기(forward scatter detector)와 측방감지기(angle detector)로 感知하여 除去하였다. 이와 같은 각각의 固有한 단크론 抗體에 결합된 FITC 및 PE가 전해 주는 BDIS(Becton Dickinson Immunocytometry System, Sunnyvale, California)의 Consort 30 Computer program에 의하여 全體 림프구에 대한 亞細胞群의 比率로 換算되어 計算되었다.

9) 細胞 毒性 測定⁴⁷⁾

본 藥物의 投與가 抗腫瘍作用에 미치는 影響을 알아보기 위하여 癌細胞株인 K562 細胞를 培養하여 ³H-thymidine이 單位時間內에 細胞內로 유입되는 程度를 測定하였다. 사람의 lymphoma cell인 K562 細胞를 RPMI 1640/10% FBS 培養液에서 5% CO₂, 37 $^{\circ}$ C 條件

을 맞춰 키워 96 well plate에 分株하고 여기에 定量的 HRC液을 添加하여 24시간 培養한 후 1 μ Ci ³H-thymidine을 넣고 4시간 동안 培養하였다. 각 well로부터 細胞를 모은 후 放射性同位元素測定器에 의하여 測定하였다. 細胞의 增殖率은 CPM(count per minute)으로 나타내었다.

10) Stress 호르몬의 測定

本 藥物의 投與가 stress 호르몬의 分泌에 미치는 影響을 알아보기 위하여 血液을 肝素處理된 실린지를 使用하여 心臟에서 採取한 후 바로 遠心分離器로 15分 동안 3000rpm의 速度로 遠心分離 시켰다. 이때 全血로부터 血漿을 分離시킨 후 血漿을 分析할 때까지 즉시 冷凍 保管하였으며, cortisol은 RADIM사의 kit를 利用한 放射免疫分析法(RIA)으로, 성장 호르몬은 RADIM사의 kit를 利用한 免疫放射計數測定法(IRMA)으로, 부신피질자극 호르몬(ACTH)은 Euro-Diagnostica사의 kit를 利用한 免疫放射計數測定法(IRMA)으로, DHEA는 DPC사의 kit를 利用한 放射免疫分析法(RIA)에 의해 定量化하였다.

11) 統計處理

各 實驗群마다 3에서 10마리(평균 5마리) 以上の 생쥐를 使用하였고, 實驗에서 얻은 수치값의 평균값과 표준편차(SE)를 구하고 有意性檢定은 Student's t test로 實施하였다. p값이 0.05以下이면 有意하다고 判定하였으며, 有意性檢定の 標示는 물과 스트레스 負荷群(스트레스 負荷群)과 藥材와 스트레스 負荷群(實驗群)에 適用하였다.

III. 實驗成績

1. 體重變化에 미치는 影響

逍遙散의 投與가 BALB/C 생쥐의 體重變化

에 미치는 影響을 알아보기 위하여 stress를 주기 前과 後의 體重을 測定한 結果, stress 負荷群은 $3.2 \pm 0.3g$ 減少한 반면 stress를 주고 逍遙散 1×를 投與한 實驗群은 $0.6 \pm 0.1g$, 逍遙散 5×를 投與한 實驗群은 $0.4 \pm 0.1g$ 增加하였다. 한편 正常 對照群과 stress를 주지 않고 逍遙散만 投與한 생쥐는 각각 $1.5 \pm 0.2g$, $1.1 \pm 0.2g$ 增加하였다(Table 1).

Table 1. Effect of Soyosan(SYS) on the changes of body weight of mouse in stress

Group	Initial body weight(g)	Final body weight(g)	Weight loss(g)
Water(W)	$25.3 \pm 0.4g$	$26.8 \pm 0.4g$	$+1.5 \pm 0.2g$
Water + Stress(W+S)	$25.5 \pm 0.4g$	$22.3 \pm 0.5g$	$-3.2 \pm 0.3g$
SYS 1×	$24.8 \pm 0.3g$	$25.9 \pm 0.5g$	$+1.1 \pm 0.2g$
SYS 1× + Stress(SYS 1×+S)	$25.2 \pm 0.2g$	$25.8 \pm 0.3g$	$+0.6 \pm 0.1g$
SYS 5× + Stress(SYS 5×+S)	$24.9 \pm 0.3g$	$25.3 \pm 0.4g$	$+0.4 \pm 0.1g$

* $p < 0.05$: significantly different from other groups

2. 大食細胞의 貪食能에 미치는 影響

1) 生體內 實驗

逍遙散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($1.88\mu m$)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 活性度を 測定하였던 바, stress 負荷群에서는 $16.7 \pm 3\%$ 의 活性度を 보였으며 이에 대하여 stress를 주고 逍遙散 1×와 5×를 投與한 實驗群에서는 $42.4 \pm 2\%$ 와 $48.9 \pm 3\%$ 로 增加하는 傾向을 보였다. 한편 正常 對照群과 逍遙散만 投與한 생쥐에서는 각각 $25.2 \pm 2\%$, $45.8 \pm 3\%$ 를 나타내었다(Fig. 1).

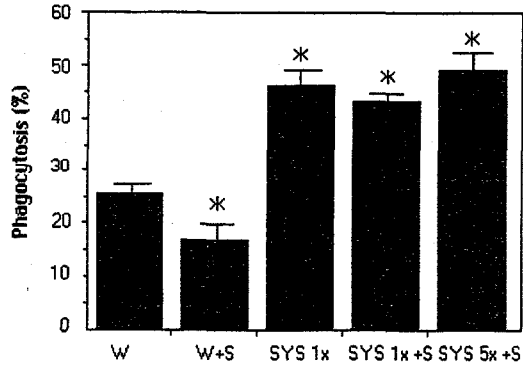


Fig. 1. *In vivo* effects of SYS administrations on phagocytic activity. The phagocytic activity was calculated by means of Consort 30 program of FACStar. The above data shown mean \pm S.E. * $p < 0.05$ compared with the water group. W(water), S(stress), SYS(soyosan)

2) 生體外 實驗

逍遙散을 生體外에서 處理했을 때 BALB/C 생쥐의 大食細胞 貪食能에 미치는 影響을 살펴보기 위하여 thioglycolate(TG) injected 正常 생쥐의 腹腔 大食細胞를 分離하여 逍遙散을 각 濃度로 처리한 뒤 6시간 培養 後에 收穫한 細胞를 FITC로 라벨된 latex particle과 培養하여 活性度を 測定한 結果는 Fig. 2와 같다. stress 負荷群($18.4 \pm 2\%$)에 비하여 逍遙散 1×와 5×를 投與한 實驗群에서는 $44.7 \pm 3\%$ 와 $49.8 \pm 3\%$ 로 增加하는 傾向을 보였다. 한편 正常 對照群과 stress를 주지 않고 逍遙散만 投與한 생쥐에서는 각각 $29.2 \pm 3\%$, $48.2 \pm 3\%$ 를 나타내었다(Fig. 2).

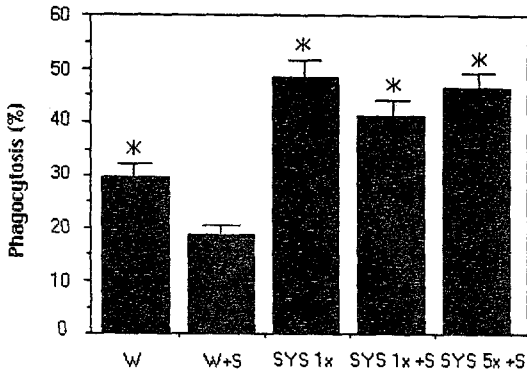


Fig. 2. *In vitro* effects of SYS administrations on phagocytic activity. Thioglycolate-elicited macrophages were incubated with SYS for 6 hours. The cells were harvested, centrifuged and measured for phagocytic activity. The phagocytic activity was calculated by means of Consort 30 program of FACStar. The above data shown mean \pm S.E. * $p < 0.05$ compared with the water plus stress group(W+S). W(water), S(stress), SYS(soyosan)

3. 大食細胞의 反應酸素中間物質 (reactive oxygen inter-mediate: ROI) 生成能에 미치는 影響

1) 生體內 實驗

逍遙散의 投與가 BALB/C 생쥐의 大食細胞의 ROI 生成에 미치는 影響을 살펴보기 위하여, 逍遙散을 14일간 投與한 생쥐의 腹腔 大食細胞를 分離한 다음 細胞 5×10^6 cell/300 μ l에 lucigenin과 luminol을 各各 添加하여 chemiluminescence(CL)로 그 活性도를 測定하였던 바 Fig. 3. 및 Fig. 4와 같았다. Fig. 3에서는 lucigenin에 의해 誘導된 大食細胞의 活性도를 CPM $\times 10^6$ 값으로 計算한 結果, stress 負荷群은 $8.2 \pm 2 \times 10^6$ 인데 비하여 逍遙散 1 \times 와

5 \times 를 投與한 實驗群에서는 $16.2 \pm 3 \times 10^6$ 과 $18.4 \pm 2 \times 10^6$ 으로 正常 對照群의 $14.8 \pm 4 \times 10^6$ 과 같은 값으로 濃度에 依存的으로 增加하는 傾向을 보였다(Fig. 3).

Fig. 4에서는 luminol에 의해 誘導된 大食細胞의 活性도를 CPM $\times 10^6$ 값으로 計算한 結果, stress 負荷群은 $7.4 \pm 3 \times 10^6$ 인데 비하여 逍遙散 1 \times 와 5 \times 를 投與한 實驗群에서는 $17.3 \pm 3 \times 10^6$ 과 $14.8 \pm 4 \times 10^6$ 으로 正常 對照群의 $13.5 \pm 2 \times 10^6$ 으로 增加하는 傾向을 보였다(Fig. 4). 한편 逍遙散 1 \times 만 처리한 群에서는 $27.5 \pm 4 \times 10^6$ 을 나타내었다.

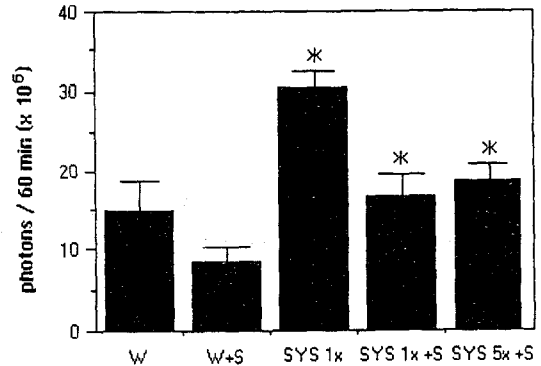


Fig. 3. *In vivo* effects of SYS administrations on the superoxide radical formation. Mice were given the drug for 14 days. Chemiluminogenic probe was done with 10mM of lucigenin(10, 10'-dimethyl-9, 9-biacri-dinium: DBN2⁺), which is amplifying superoxide radicals. Murine peritoneal macrophages(5.0×10^6 cells/300 μ l) were stimulated by 5.3 μ M phorbol myristate acetate(PMA), and the measurement of superoxide radicals was carried out in the chemiluminometer for 60 minute at 30 $^{\circ}$ C. The above data shown mean \pm S.E. * $p < 0.05$ compared with the water plus stress group(W+S). W(water), S(stress), SYS(soyosan)

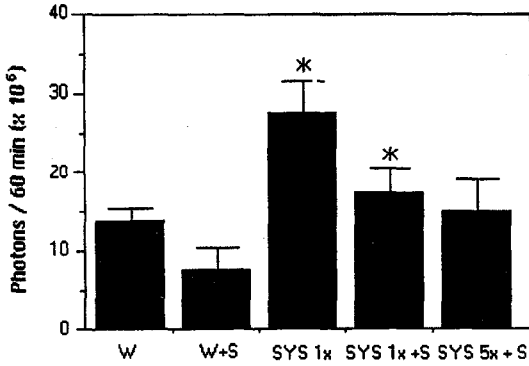


Fig. 4. *In vivo* effects of SYS administrations on the hydrogen peroxide radical formation. Mice were given the drug for 14 days. Chemiluminogenic probe was done with 10mM of luminol(5-amino-2, 3-dihydro 1,4-phthalazinedione), which is amplifying hydrogen peroxide radicals. Murine peritoneal macrophages(5.0×10^6 cells/ $300 \mu\text{l}$) were stimulated by $5.3 \mu\text{M}$ phorbol myristate acetate(PMA), and the measurement of hydrogen peroxide radicals was carried out in the chemiluminometer for 60 minute at 37°C . The above data shown mean \pm S.E. * $p < 0.05$ compared with the water plus stress group(W+S) W(water), S(stress), SYS(soyosan)

2) 生體外 實驗

生體外에서 逍遙散의 影響을 알아보기 위하여 正常 생쥐로부터 腹腔 大食細胞를 分離한 후 1x와 5x의 逍遙散을 細胞에 直接 處理하여 6시간 培養한 후 細胞를 收穫하여 上記와 같은 方法으로 測定하였다.

Fig.5에서는 lucigenin에 의해 誘導된 大食細胞의 活性度를 $\text{CPM} \times 10^6$ 값으로 計算한 結果, stress 負荷群은 $11.5 \pm 4 \times 10^6$ 인데 비하여 stress를 주고 逍遙散 1x와 5x를 投與한 實驗群에서는 $28.5 \pm 3 \times 10^6$ 과 $30.4 \pm 2 \times 10^6$ 으로

正常 對照群의 $20.6 \pm 3 \times 10^6$ 보다도 높은 값으로 增加하는 傾向을 보였다(Fig. 5). 또한 luminol에 의해 誘導된 大食細胞의 活性度를 CPM값으로 計算한 結果, stress 負荷群은 $10.8 \pm 5 \times 10^6$ 인데 비하여 stress를 주고 逍遙散 1x와 5x를 投與한 實驗群에서는 $24.3 \pm 2 \times 10^6$ 과 $25.9 \pm 3 \times 10^6$ 으로 增加하는 傾向을 보였다(Fig. 6).

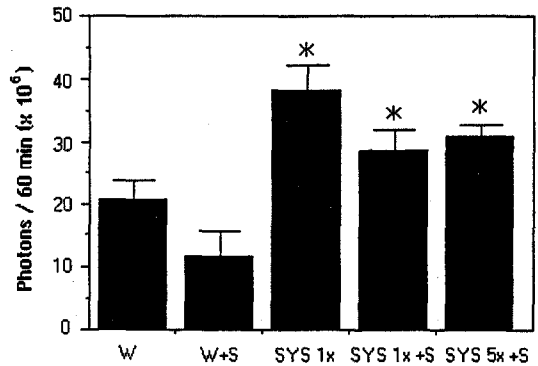


Fig. 5. *In vitro* effects of SYS administrations on the superoxide radical formation. TG-elicited macrophages were incubated with SYS for 6 hours. The cells were harvested, centrifuged and measured for superoxide formation. Chemiluminogenic probe was done with 10mM of lucigenin(10, 10'-dimethyl-9, 9-biacridinium: $\text{DBN}2^+$), which is amplifying superoxide radicals. The cells were stimulated by $5.3 \mu\text{M}$ phorbol myristate acetate(PMA), and the measurement of superoxide radicals was carried out in the chemiluminometer for 60 minute at 37°C . The above data shown mean \pm S.E. * $p < 0.05$ compared with the water plus stress group(W+S). W(water), S(stress), SYS(soyosan)

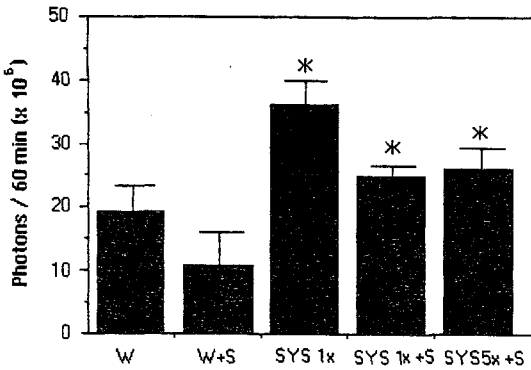


Fig. 6. *In vitro* effects of SYS administrations on the hydrogen peroxide radical formation. TG-elicited macrophages were incubated with SYS for 6 hours. The cells were harvested, centrifuged and measured for hydrogen peroxide formation. Chemiluminogenic probe was done with 10mM of luminol (5-amino-2, 3-dihydro 1,4-phthalazine-dione), which is amplifying hydrogen peroxide radicals. The cells were stimulated by 5.3 μ M phorbol myristate acetate(PMA), and the measurement of hydrogen peroxide radicals was carried out in the chemiluminometer for 60 minute at 37 $^{\circ}$ C. The above data shown mean \pm S.E. * $p < 0.05$ compared with the water plus stress group(W+S). W(water), S(stress), SYS(soyosan)

4. 大食細胞의 反應窒素中間物質 (reactive nitrogen intermediate: RNI) 生成能에 미치는 影響

逍遙散이 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 逍遙散을 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($6 \pm 2 \mu$ M/L)과 比較하여 볼 때 stress 負

荷群($5 \pm 2 \mu$ M/L)에 비해 逍遙散 1 \times 와 5 \times 를 投與한 實驗群에서는 $13 \pm 3 \mu$ M/L와 $12 \pm 2 \mu$ M/L로 약간 增加하였다(Table 2). 한편 正常 對照群과 stress를 주지 않고 逍遙散만 投與한 생쥐에서는 각각 $9 \pm 2 \mu$ M/L, $16 \pm 3 \mu$ M/L를 나타내었다.

Table 2. Effects of SYS on the secretion of nitrites in murine peritoneal macrophages

Treatment	Nitrite Conc. (μ M/L)
Medium only	6 ± 2
γ -IFN	18 ± 3
LPS	21 ± 4
γ -IFN + LPS	78 ± 6
Water	9 ± 2
Water + Stress	5 ± 2
SYS 1 \times	$16 \pm 3^*$
SYS 1 \times + Stress	$13 \pm 3^*$
SYS 5 \times + Stress	$12 \pm 2^*$

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 SYS. The amount of NO₂⁻ released by macrophages was measured after 48 hours of incubation. NO₂⁻ was measured spectrophotometrically as described in Material and Methods. Values are means \pm S.E. of four experiments. * $p < 0.05$ compared with the water plus stress group(W+S).

5. Rosette 形成細胞에 미치는 影響

Stress를 준 BALB/C 생쥐에 있어서 逍遙散의 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. 7과 같았다. Stress 負荷群의 10^6 脾臟細胞當 10^3 RFC의 數는 $22.4 \pm 4 \times 10^3$ 인데 비해, 逍遙散 1 \times 와 5 \times 를 投與한 實驗群에서는 $56.8 \pm 6 \times 10^3$ 과 $64.8 \pm 5 \times 10^3$ 으로 有意性있게 增加하였다(Fig. 7). 한편 正常 對照群과 stress를 주지 않고 逍遙散만 投與한 생쥐에서는 각각 $39.3 \pm 4 \times$

10^3 , $72.4 \pm 2 \times 10^3$ 을 나타내었다.

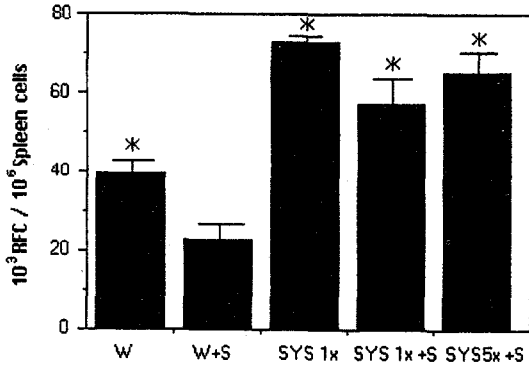


Fig. 7. Effects of SYS administrations on the appearance of rosette forming cells(RFC) in mice. Mice were immunized with SRBC, and spleen cells were assayed for RFC at 8 days after immunization. Mice were orally given SYS for 14 days before sensitization. The above data shown mean \pm S.E. * $p < 0.05$ compared with the water plus stress group(W+S). W(water), S(stress), SYS(soyosan)

6. T細胞의 亞型 變化에 미치는 影響

Stress를 준 BALB/C 생쥐에 있어서 逍遙散의 投與가 림프절 내의 T細胞群의 亞型變化에 미치는 影響을 조사한 結果, stress 負荷群의 CD4 陽性細胞가 $21.5 \pm 3\%$ 인데 비해, 逍遙散 1x와 5x를 投與한 實驗群에서는 $45.8 \pm 5\%$ 와 $49.9 \pm 4\%$ 로 有意性있게 增加하였다(Fig. 8). 반면 생쥐의 림프절에서 CD8 陽性細胞는 $53.4 \pm 4\%$ 인 stress 負荷群에 비하여 逍遙散 1x와 5x를 投與한 實驗群에서는 $48.3 \pm 5\%$ 와 $52.1 \pm 4\%$ 로 全體적으로 낮아지는 傾向을 보였다(Fig. 9).

本 實驗의 研究 結果에 의한 CD4/CD8 陽性細胞의 比率을 調査한 結果는 Fig.10과 같았다. Stress 負荷群이 0.40/1인 반면 逍遙散 1x와 5x를 投與한 實驗群에서는 0.95/1과 0.96/1로 stress 負荷群에 비하여 有意性있게 增加하여 逍遙散의 投與는 stress를 받은 생쥐의 T細胞群中 CD4 陽性細胞의 比率을 全體적으로 增加시키는 것으로 나타났다(Fig. 10). 한편 正常 對照群과 stress를 주지 않고 逍遙散만 投與한 생쥐에서는 각각 0.48/1, 1.08/1을 나타내었다.

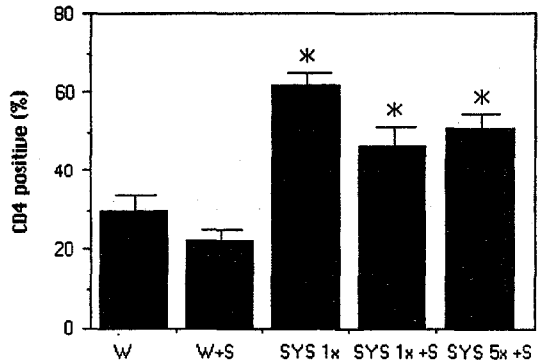


Fig. 8. Effects of antigen-challenge on sequestering of peripheral lymphocytes subset during administration of SYS. A single cell suspension prepared from peripheral lymph nodes was incubated with anti-L3T4(CD4⁺) antibody and analysed FCM. The above data shown mean \pm S.E. * $p < 0.05$ compared with the water plus stress group(W+S). W(water), S(stress), SYS(soyosan)

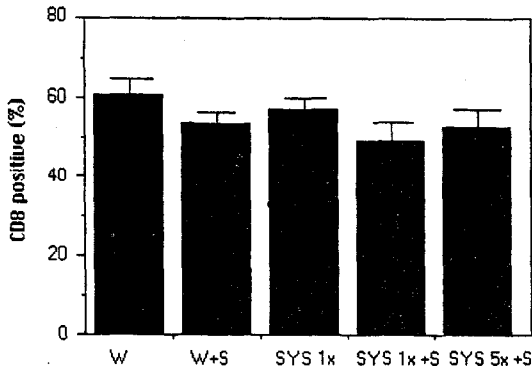


Fig. 9. Effects of antigen-challenge on sequestering of peripheral lymphocytes subset during administration of SYS. A single cell suspension prepared from peripheral lymph nodes was incubated with anti-Lyt2(CD8⁺) antibody and analysed FCM. The above data shown mean \pm S.E. W(water), S(stress), SYS(soyosan)

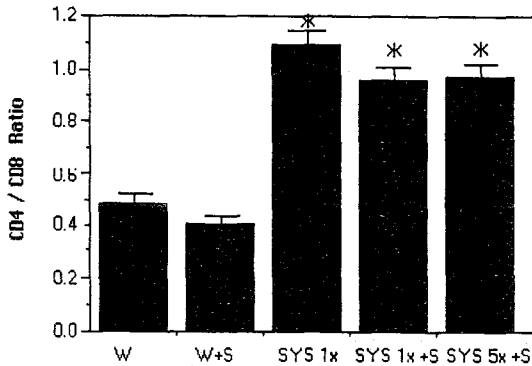


Fig. 10. Changes in anti-L3T4/ anti-Lyt2 antibody ratio during administration of SYS. The data about CD4⁺ and CD8⁺ cells were obtained from previous acquired results. The above data shown mean \pm S.E. * p<0.05 compared with the

water plus stress group(W+S). W(water), S(stress), SYS(soyosan)

7. 細胞毒性에 미치는 影響

Stress를 준 BALB/C 생쥐에 있어서 逍遙散의 投與가 抗癌作用에 미치는 影響을 알아보기 위하여 癌細胞柱인 K562를 使用하여 實驗한 結果, stress 負荷群은 15.3 \pm 4%인데 비해, 逍遙散 1 \times 와 5 \times 를 投與한 實驗群에서는 32.6 \pm 5%와 35.1 \pm 3%로 有意性있게 增加하였다(Fig. 11). 한편 正常 對照群과 stress를 주지 않고 逍遙散만 投與한 생쥐에서는 각각 24.8 \pm 3%, 55.4 \pm 3%를 나타내었다.

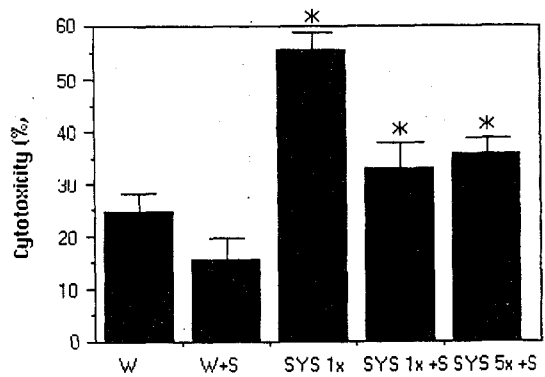


Fig. 11. Effects of SYS administrations on the cytotoxicity in human lymphoma (K562). For the analysis of cytotoxicity, the cells were incubated RPMI 1640/10% FBS and treated with various concentrations of SYS. After 1 hour, the cells were labelled with 1 μ Ci (³H)-Thymidine for 4 hours. The above data shown mean \pm S.E. * p<0.05 compared with the water plus stress group(W+S). W(water), S(stress), SYS(soyosan)

8. Stress 호르몬에 미치는 影響

Stress를 준 BALB/C 생쥐에 있어서 逍遙散의 投與가 stress 호르몬에 미치는 影響을 알아본 結果, 성장 호르몬(GH)과 DHEA의 경우 stress 負荷群은 $0.043 \pm 0.004 \text{ ng/ml}$ 와 $0.085 \pm 0.008 \text{ ng/ml}$ 인데 비해, 逍遙散 1×와 5×를 投與한 實驗群에서는 $0.079 \pm 0.005 \text{ ng/ml}$ 와 $0.082 \pm 0.003 \text{ ng/ml}$, $0.210 \pm 0.010 \text{ ng/ml}$ 와 $0.180 \pm 0.010 \text{ ng/ml}$ 로 有意性있게 增加하였다(Fig. 12, 13). 반면에 부신피질자극 호르몬(ACTH)과 cortisol의 경우 stress 負荷群은 $284 \pm 8 \text{ pg/ml}$ 와 $47 \pm 4 \text{ } \mu\text{g/ml}$ 인데 비해, 逍遙散 1×와 5×를 投與한 實驗群에서는 $182 \pm 7 \text{ pg/ml}$ 와 $161 \pm 6 \text{ } \mu\text{g/ml}$, $31 \pm 5 \text{ pg/ml}$ 와 $26 \pm 5 \text{ } \mu\text{g/ml}$ 로 有意性있게 減少하였다(Fig. 14, 15).

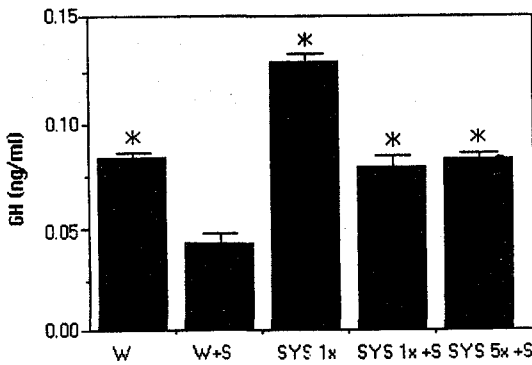


Fig. 12. The change of growth hormone(GH) during administrations of SYS. For the analysis of growth hormone(ng/ml), peripheral blood was centrifuged at 3,000rpm for 15 min at 4°C. Plasma was separated and used for radioimmunoassay of hormones. The plasma level of GH was determined via liquid phase double-antibody ^{125}I radioimmunoassay(RADIM SpA, Roma, Italia). The above data shown mean \pm S.E. * $p < 0.05$ compared with the water plus stress group(W+S). W(water), S(stress), SYS(soyosan)

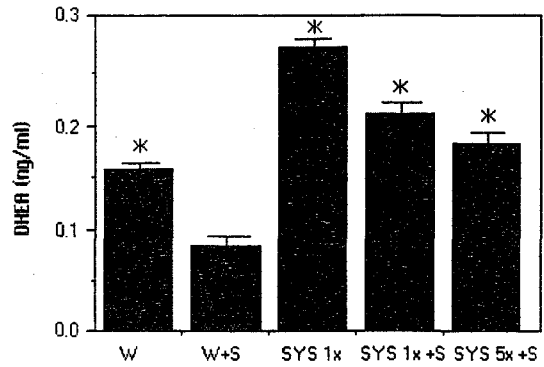


Fig. 13. The change of dehydroepiandrosterone(DHEA) during administrations of SYS. For the analysis of dehydroepiandrosterone(ng/ml), peripheral blood was centrifuged at 3,000rpm for 15 min at 4°C. Plasma was separated and used for radioimmunoassay of hormones. The plasma level of DHEA was determined via liquid phase double-antibody ^{125}I radioimmunoassay(Diagnostic Products Co., Los Angeles, USA). The above data shown mean \pm S.E. * $p < 0.05$ compared with the water plus stress group(W+S). W(water), S(stress), SYS(soyosan)

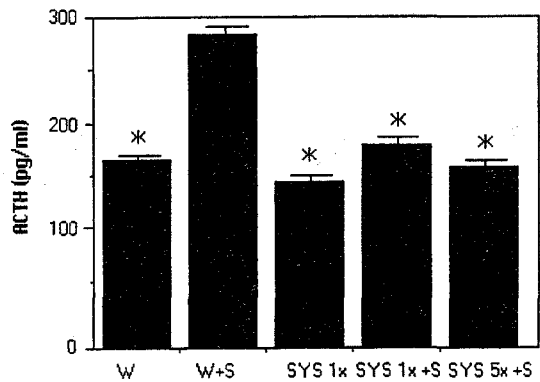


Fig. 14. The change of adrenocortico-

tropic hormone(ACTH) during administrations of SYS. For the analysis of adrenocorticotrophic hormone($\mu\text{g}/\text{ml}$), peripheral blood was centrifuged at 3,000rpm for 15 min at 4°C. Plasma was separated and used for radioimmunoassay of hormones. The plasma level of ACTH was determined via liquid phase double-antibody ^{125}I radioimmunoassay (Euro-Diagnostica BV, Arnhem, Netherlands). The above data shown mean \pm S.E. * $p < 0.05$ compared with the water plus stress group(W+S). W(water), S(stress), SYS(soyosan)

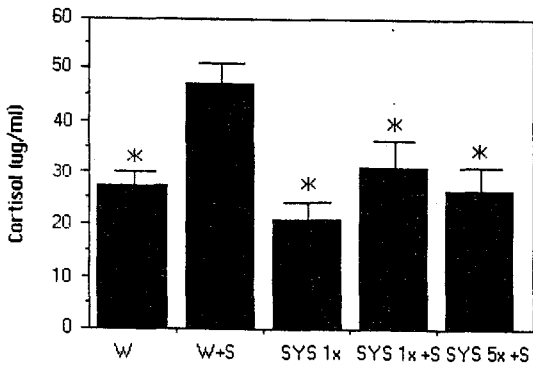


Fig. 15. The change of cortisol during administrations of SYS. For the analysis of cortisol($\mu\text{g}/\text{ml}$), peripheral blood was centrifuged at 3,000rpm for 15 min at 4°C. Plasma was separated and used for radioimmunoassay of hormones. The plasma level of cortisol was determined via liquid phase double-antibody ^{125}I radioimmunoassay RADIM SpA, Roma, Italia). The above data shown mean \pm S.E. * $p < 0.05$ compared with the water plus stress group(W+S). W(water), S(stress), SYS(soyosan)

IV. 考 察

스트레스 學說은 Claude Bernard의 生體에 대한 內的環境의 恒常性 理論 以來로 W. B. Cannon의 生體調節機能에 關한 古典의 原則을 背景으로 나타났으며¹⁰⁰, 스트레스란 用語는 라틴어에서 由來한 말로서 人間의 經驗이나 行動을 記述하는 日常的 用語로 使用되었는데¹⁰¹⁻¹⁰² 이를 近代醫學의 生理, 生化學的 側面에서 最初로 概念을 形成한 것은 Hans Selye였다^{103, 132-133}

Selye는 스트레스를 身體가 刺戟의 種類에 關係없이 일으키는 非特異的인 反應으로 定義하였다³. 스트레스는 個人으로 하여금 適應의 要求를 强要하는 身體的 또는 心理的 壓迫狀態로, 過度하고 持續的인 境遇에는 個人의 潛在的인 能力을 消耗시켜 機能障碍를 誘發하게 한다¹⁰⁴

스트레스 反應의 機轉은 세 가지로 나눌 수 있는데, 첫째는 stressor가 身體에 直接的인 影響을 미치는 것, 둘째는 刺戟을 받은 組織의 抵抗이나 害가 되는 物質을 破壞하는데 도움을 주려는 內部的인 反應, 셋째는 不必要하거나 지나친 防禦를 抑制함으로 인해 組織拋棄를 誘發하는 內部的인 反應이다¹³³. 스트레스 反應은 內分泌系, 自律神經系, 覺醒水準, 記憶, 對處, 運動系, 免疫系 등의 反應을 利用하여 stressor에 맞서려는 現狀⁷⁻⁹으로 精神的, 感情的, 身體的 反應으로 나타나서 筋肉系, 心血管系, 內分泌系를 活性化시키는 同時에 認知作用과 感性作用이 活性化되어 生理反應과 同時에 不安, 恐怖를 나타낸다¹⁰.

刺戟에 대한 人體反應의 機轉은 stressor가 生體에서 視床下部 - 腦下垂體 - 副腎의 軸을 活性化하여 視床下部에서 副腎皮質 호르몬 遊離因子的 生成 結果 副腎皮質刺戟 호르몬의 分泌를 增加시켜 副腎皮質에서 副腎皮質 스테로이드(corticosteroid)의 生成을 刺戟시키며 그 結果, 不利한 刺戟에 對抗한다고 說明되고 있다¹⁰⁵.

韓醫學의 精神活動의 範疇 가운데 情緒의 變化는 自己中心의 外在的 表現으로 이를 七情으로 表現하나, 情緒의 變化는 外界 事物에 대한 生體內部變化의 反映으로 外在的 stressor에 대한 生體反應으로 보고 있으며¹⁰⁶⁾, 《素問·舉痛論》¹⁰⁷⁾에 依하면 怒하면 氣上하고, 喜하면 氣緩하며, 悲하면 氣消하고, 恐하면 氣下하며, 驚하면 氣亂하고, 思하면 氣結한다고 하였으며, 《素問·陰陽應象大論》¹⁰⁷⁾에서는 喜는 心을 傷하고, 怒는 肝을 傷하며, 思는 脾를 傷하고, 憂는 肺를 傷하며, 恐은 腎을 傷한다고 하였고, 《靈樞·百病始生論》¹⁰⁸⁾에서는 喜怒가 不節하면 臟을 傷한다 하여 七情이 內部臟器에 중요한 變化를 일으킴을 나타내고 있다^{107, 63)}.

金³⁾은 이러한 七情의 變化를 氣의 變化로 一種의 스트레스 現狀이라고 하였으며, 氣의 病症은 七氣, 九氣, 氣鬱, 氣逆, 中氣 등으로 分類되고, 이로써 感情이나 氣의 變化는 하나의 스트레스로 作用할 수 있으며, 脈管 및 自律神經系의 緊張과 弛緩을 招來한다^{2-3, 11)}고 하였다.

최근에는 西洋醫學 뿐 아니라 韓醫學 分野에서도 스트레스에 대한 實驗的 研究가 많이 實施되고 있는데, 朴等⁶⁶⁻⁶⁸⁾은 補血安神湯, 丹參補血湯, 四物安神湯 등의 補血之劑를 使用하였으며, 金等^{81, 69-72)}은 分心氣飲, 天王補心丹, 木香順氣散, 六鬱湯, 交感丹, 蘇合香元 등의 調氣之劑를 使用하였고, 曹等⁷³⁻⁷⁷⁾은 歸脾溫膽湯, 祛痰清心湯, 半夏白朮天麻湯 등의 溫膽, 祛痰之劑를 使用하였고 金⁷⁸⁾은 清肝瀉火시키는 清肝逍遙散을 使用하여 抗스트레스 效果를 報告하였고, 李⁷⁹⁾는 溫膽湯, 四物安神湯, 柴胡疎肝散을 肥滿 및 스트레스 疾患에 應用할 수 있음을 提示하였고, 四象醫學에서 金等⁶⁴⁻⁶⁵⁾은 調胃升清湯, 少陰人 補中益氣湯 등을 使用하여 抗스트레스 效果를 報告한 바 있다.

逍遙散은 本來 肝鬱血虛, 兩脇作痛, 頭痛目眩, 口燥咽乾, 神疲食少, 或見寒熱往來, 月經不調 등을 治療하는 處方으로, 處方 內容에서 약간의 差異는 있지만 그 基本 構成과 方解는 同一하며^{21, 80-83)}, 尹⁸⁴⁾은 臨床에서 一切의 氣鬱로 인한

病證에 使用할 수 있다고 하였으며, 康³¹⁾은 寒熱, 上氣, 頭暈, 脇痛, 倦怠, 女子經水不調, 心悸, 口苦 等症에 廣範圍하게 活用되며 특히 自律神經失調, 更年期 症狀, 神經性 諸症狀에 널리 使用된다고 하였다.

各 藥物에 대한 性味와 歸經, 그리고 效能을 살펴보면, 白朮^{84-88, 108-114)}은 菊花科에 속한 多年生草本인 흰삼주의 根으로 性味는 甘苦微溫 無毒하며 脾·胃經으로 들어가고, 補脾益氣, 固表止汗, 消食의 效能이 있으며, 淋巴肉腫을 抑制하는 作用이 있고 細胞性 免疫機能 增加 및 直接 細胞毒性 作用이 있으며 抗癌免疫反應을 強化시키는 作用이 있다. 白芍藥^{84-88, 108-112)}은 毛茛科에 속한 多年生草本인 합박꽃과 산작약의 根으로, 性味는 酸微寒 無毒하며 肝·脾經으로 歸經하고, 瀉肝火 和血脈 安中止痛의 效能이 있으며, 생쥐에서 스트레스성 潰瘍의 發生을 豫防한다. 白茯苓^{84-88, 108-112, 114)}은 多孔菌科에 속한 松樹根에 寄生하는 不定形의 菌核으로, 性味는 甘平 無毒하며 心·脾·肺로 歸經하고, 健脾和中 寧心安神의 效能이 있으며 호르몬 調節機能, 免疫系統과 酵素系統을 活性化시키는 機能 이 있고, 細胞性 免疫反應과 體液性 免疫反應의 增強作用이 있으며, 생쥐의 幽門 結紮로 생기는 潰瘍을 豫防하고 抗菌作用이 있다. 柴胡^{84-88, 108-112)}는 繖形科에 속한 多年生草本인 시호의 根으로, 性味는 苦平微寒하며 肝·膽의 二經으로 歸經하고, 除寒熱往來 脇痛苦滿 少陽經熱邪하는 效能이 있으며, 생쥐의 皮下肉腫에 대해 抗滲出作用, 肉芽腫 生長抑制作用이 있고, 인플루엔자 바이러스에 대해 抗바이러스 作用이 있다. 當歸^{84-88, 108, 110-112, 117-118)}는 繖形科에 속한 多年生草本인 참당귀의 根으로, 性味는 甘苦辛溫 無毒하며 肝·心·脾經으로 歸經하고, 補血和血 止痛의 效能이 있으며, 大食細胞와 單核細胞의 活性化를 促進시키고 B細胞의 增殖을 促進시키며 抗體 生成을 증진시키는 作用이 있다. 麥門冬^{84-88, 108, 110-112)}은 百合科에 속한 多年生草本인 소엽맥문동의 塊根으로, 性味는 甘微寒 無毒하며 心·肺·胃의 三經으로 歸經하고, 滋陰

清熱 益津液 清心邪熱除煩하는 效能이 있으며, 호르몬 調節機能 活性, 免疫系統과 酵素機能의 向上, 抗體의 生存基幹을 延長시키는 作用이 있다. 甘草^{84-88, 108-112, 114-116})는 豆科에 속한 多年生草本인 감초의 根으로 性味는 甘平 無毒하며 脾·胃·肺 三經으로 歸經하고, 補脾益氣 清熱和中解毒하는 效能이 있으며, corticoid樣 作用이 있고, 免疫調節과 抑制作用이 있으며 骨髓癌에 대해 抑制作用이 있고, 抗炎, 抗알레르기 반응, 抗아나필락시스 作用이 있다. 薄荷^{84-88, 108, 110-112})는 繖形科에 속한 多年生 草本인 박하의 地上部 全草로, 性味는 辛涼 無毒하며 肺·肝으로 歸經하고, 疏風散熱 清頭目하는 效能이 있으며, 人型 結核菌을 억제하고, 티푸스菌에 대한 顯著한 抗菌作用이 있다.

따라서 逍遙散煎湯液이 스트레스에 의한 免疫抑制의 豫防에 效果가 기대되어 생쥐를 사용하여 逍遙散煎湯液을 前 投與하고 實驗的 스트레스를 誘發시킨 다음 그 效果를 調査하였다.

逍遙散의 投與가 BALB/C 생쥐의 體重變化에 미치는 影響을 알아보기 위하여 stress를 주기 前과 後의 體重을 測定한 結果, stress 負荷群은 $3.2 \pm 0.3g$ 減少한 반면, 逍遙散 1×를 投與한 實驗群은 $0.6 \pm 0.1g$, 逍遙散 5×를 投與한 實驗群은 $0.4 \pm 0.1g$ 增加하였다(Table 1). 이러한 結果는 스트레스에 대한 身體의 反應으로서 體重減少가 誘發된다는 研究^{66-69, 73, 89-90})와 附合되는 것으로 逍遙散이 스트레스로 인한 體重減少를 抑制시키는 作用을 하는 것을 알 수 있었다.

逍遙散이 大食細胞 貪食能에 미치는 影響에 대해 알아보기 위해 生體內 生體外 實驗을 한 結果, 生體內에서는 stress 負荷群에서는 $16.7 \pm 3\%$ 의 活性度を 보였으며 이에 대하여 逍遙散 1×와 5×를 投與한 實驗群에서는 $42.4 \pm 2\%$ 와 $48.9 \pm 3\%$ 로 增加하는 傾向을 보였다(Fig.1). 또 逍遙散을 生體外에서 處理했을 때는 stress 負荷群($18.4 \pm 2\%$)에 비하여 逍遙散 1×와 5×를 投與한 實驗群에서는 $44.7 \pm 3\%$ 와 $49.8 \pm 3\%$ 로 增加하는 傾向을 보였다(Fig.2).

大食細胞는 T細胞가 생산하는 림포카인의 活性를 받게 되면 細胞內 lysosome에 있는 여러 가지 加水分解 酵素의 增加와 反應酸素中間物質(ROI)이나 反應窒素中間物質(RNI)을 生成하여 貪食된 細胞內 微生物을 效果적으로 死滅시키거나 繁殖을 阻止할 수 있게 된다⁹¹). 大食細胞 表面에 異物質이 附着되면 呼吸爆發現狀에 의해 superoxide가 生成되며 이는 여러 過程을 거쳐 superoxide나 hydrogen peroxide 같은 ROI로 轉換된다. ROI는 微生物體의 脂質成分을 酸化시켜 抗微生物作用을 나타내게 한다⁹²). 또한 反應窒素中間物質(RNI)은 L-arginine에 依存的으로 生成되며 癌細胞 酵素活性의 抑制, 미토콘드리아 전자전달계 過程의 遮斷, DNA 合成抑制을 誘發하여 大食細胞의 抗癌, 抗微生物活動 등에 重要な 役割을 하는 物質이다⁹³).

逍遙散의 投與가 BALB/C 생쥐의 大食細胞의 ROI 生成에 미치는 影響을 살펴보기 위하여, lucigenin과 luminol을 各各 添加하여 생체 내 및 생체의 實驗을 한 結果, 생체 내에서는 lucigenin에 의해 誘導된 大食細胞의 活性도는 Fig. 3에서 보는 바와 같이 stress 負荷群은 $8.2 \pm 2 \times 10^6$ 인데 비하여 逍遙散 1×와 5×를 投與한 實驗群에서는 $16.2 \pm 3 \times 10^6$ 과 $18.4 \pm 2 \times 10^6$ 으로 正常 對照群의 $14.8 \pm 4 \times 10^6$ 과 같은 값으로 濃度에 依存的으로 增加하는 傾向을 보였으며, luminol에 의해 誘導된 大食細胞의 活性도는 stress 負荷群은 $7.4 \pm 3 \times 10^6$ 인데 비하여 逍遙散 1×와 5×를 投與한 實驗群에서는 $17.3 \pm 3 \times 10^6$ 과 $14.8 \pm 4 \times 10^6$ 으로 正常 對照群의 $13.5 \pm 2 \times 10^6$ 과 같은 水準으로 增加하는 傾向을 보였다(Fig. 4).

生體外에서 逍遙散의 影響은 lucigenin에 의해 誘導된 大食細胞의 活性도는 stress 負荷群은 $11.5 \pm 4 \times 10^6$ 인데 비하여 逍遙散 1×와 5×를 投與한 實驗群에서는 $28.5 \pm 3 \times 10^6$ 과 $30.4 \pm 2 \times 10^6$ 으로 正常 對照群의 $20.6 \pm 3 \times 10^6$ 보다도 높은 값으로 增加하는 傾向을 보였다(Fig. 5). 또한 luminol에 의해 誘導된 大食細胞의 活性도는 stress 負荷群은 $10.8 \pm 5 \times 10^6$

인데 비하여 逍遙散 1×와 5×를 投與한 實驗群에서는 $24.3 \pm 2 \times 10^6$ 과 $25.9 \pm 3 \times 10^6$ 으로 增加하는 傾向을 보였다(Fig. 6).

逍遙散이 腹腔 大食細胞의 RNI 生成에 미치는 影響에 대해 調査한 結果, stress 負荷群(5±2)에 비해 逍遙散 1×와 5×를 投與한 實驗群에서는 $13 \pm 3 \mu\text{M/L}$ 와 $12 \pm 2 \mu\text{M/L}$ 로 약간 增加하였다(Table 2). 이것으로 보아 逍遙散의 投與가 個體의 先天的 免疫能을 증가시켜 抗微生物 및 抗腫瘍 작용을 나타낼 수 있을 것으로 생각된다. 그러나 ROI의 과다 생성은 抗微生物 작용과 함께 正常組織의 損傷이 隨伴될 수 있으므로 逍遙散을 過多服用하거나 長期投與를 하였을 때 副作用에 대한 研究가 있어야 할 것으로 思料된다.

Rosette 形成細胞는 抗原綿羊赤血球에 대한 抗體生成細胞로 效果 T 細胞로 推測되고 있으며, rosette 形成細胞의 數를 測定하여 免疫機能을 評價한다⁹⁴⁾.

BALB/C 생쥐에 있어서 逍遙散의 投與가 綿羊赤血球에 대한 免疫反應細胞數는 stress 負荷群이 $22.4 \pm 4 \times 10^3$ 인데 비해 逍遙散 1×와 5×를 投與한 實驗群에서는 $56.8 \pm 6 \times 10^3$ 과 $64.8 \pm 5 \times 10^3$ 으로 有意性있게 增加하였다(Fig. 7). 이로써 逍遙散이 抗原에 대한 感受性 細胞를 增加시킴을 알 수 있었다.

T細胞 表面의 抗原 受容體는 抗原과 細胞 表面標識를 同時에 認識하여 活性化되는데, 細胞 表面標識는 主組織適合接合體(major histocompatibility complex: MHC)로 알려진 分子群에 속하며, class I 과 class II로 나뉘는데, T 細胞의 亞細胞인 helper T 세포(CD4⁺)는 抗原에 感작되면 大食細胞 表面의 抗原과 MHC class II 複合體를 同時에 認識하고 結合하여 림포카인을 生産하여 大食細胞를 活性化하고, 細胞內 微生物을 殺害하게 한다. 또다른 亞細胞인 cytotoxic T 細胞(CD8⁺)는 바이러스가 感染된 細胞 表面의 MHC class I 과 同伴된 抗原을 認知하여 그 細胞內에서 바이러스가 增殖하기 전에 感染細胞를 殺害하며, γ IFN을 分泌하여

바이러스가 周圍 細胞로 擴散되는 것을 阻止하는 作用을 한다⁹⁵⁾.

Stress를 준 BALB/C 생쥐에 있어서 逍遙散의 投與가 림프절 내의 T細胞群의 亞型變化에 미치는 影響을 조사한 結果, stress 負荷群의 CD4 陽性細胞가 $21.5 \pm 3\%$ 인데 비해 逍遙散 1×와 5×를 投與한 實驗群에서는 $45.8 \pm 5\%$ 와 $49.9 \pm 4\%$ 로 有意性있게 增加하였으나(Fig. 8), 반면 CD8 陽性細胞는 $53.4 \pm 4\%$ 인 stress 負荷群에 비하여 逍遙散 1×와 5×를 投與한 實驗群에서는 $48.3 \pm 5\%$ 와 $52.1 \pm 4\%$ 로 全體적으로 낮아지는 傾向을 보였다(Fig. 9). 따라서 本 實驗의 研究 結果에 의한 CD4/CD8 陽性細胞의 比率를 調査한 結果, stress 負荷群이 0.40/1인 반면 逍遙散 1×와 5×를 投與한 實驗群에서는 0.95/1과 0.96/1로 stress 負荷群에 비하여 有意性있게 增加하여 逍遙散의 投與는 stress를 받은 생쥐의 T細胞群 中 CD4 陽性細胞의 比率를 全體적으로 增加시키는 것으로 나타났다(Fig. 10). 이러한 結果는 逍遙散이 抗體의 半減期를 增加시키기보다는 抗體의 生成能을 增加시켜 免疫調節 作用을 하고 있음을 意味한다.

逍遙散의 投與가 抗癌作用에 미치는 影響을 알아보기 위하여 癌細胞主인 K562를 使用하여 實驗한 結果, stress 負荷群은 $15.3 \pm 4\%$ 인데 비해 逍遙散 1×와 5×를 投與한 實驗群에서는 $32.6 \pm 5\%$ 와 $35.1 \pm 3\%$ 로 有意性있게 增加하였다(Fig. 11). 이로써 逍遙散이 腫瘍細胞 殺害能을 增加시킨다는 것을 알 수 있었다.

성장호르몬(GH)과 부신피질호르몬(ACTH)은 선하수체라고도 불리는 腦下垂體 前葉에서 分泌되며, cortisol과 DHEA(dehydroepiandrosteron)는 副腎皮質에서 分泌된다⁹⁶⁻⁹⁹⁾.

GH는 成長할 수 있는 모든 體組織의 成長을 促進시키는데 細胞의 파괴 뿐 아니라 細胞의 數도 增加시키며, 成長에 必要한 蛋白質 合成을 亢進시키고 分解를 抑制시키며, 필요한 에너지는 脂肪을 燃燒시켜 얻게 하므로 지방이용호르몬(fat utilizing hormone)이라고도 한다⁹⁶⁾.

DHEA는 adrenal steroid hormone으로서

sex steroid를 合成하는 中間產物로서 男性의 二次性徵 發現에 關與하고 있으며, 年齡이 增加함에 따라 體內的 生産이 漸次 減少한다. 蛋白質 合成과 組織의 重量 增加, 筋肉의 形成을 促進시키는 作用을 하고, 骨의 成長에 關與한다^{96, 99, 119-122}. 免疫機能의 調節因子의 하나로서 steroid hormone들이 매우 重要한 役割을 하는 것으로 밝혀지고 있는데, DHEA는 最近에 lymphokine의 生産에 있어서 調節機能을 한다고 報告되었다¹²³⁻¹³¹.

ACTH는 그 이름처럼 副腎皮質의 호르몬 分泌를 促進시키는 호르몬으로 cortisol과 음성되먹이기(negative feedback) 機轉으로 分泌가 調節된다⁹⁷⁻⁹⁹. Cortisol의 主作用은 機質 代謝를 크게 變動시키는 것인데 GH가 蛋白質 分解를 抑制하고 生成을 促進하는 것과는 相反되게 cortisol은 組織(특히 筋組織)內에 貯藏되어 있는 蛋白質을 分解하며 아미노산을 遊離시킨다. 또한 蛋白質의 生成을 抑制하는 作用도 가지고 있다. Cortisol은 組織損傷, 感染, 過度한 溫熱이나 寒冷 等の 스트레스에 卽刻的으로 反應하여 分泌가 增加된다⁹⁶.

Stress를 준 BALB/C 생쥐에 있어서 逍遙散의 投與가 stress 호르몬에 미치는 影響을 알아본 結果, GH와 DHEA의 경우 stress 負荷群은 $0.043 \pm 0.004 \text{ng/ml}$ 와 $0.085 \pm 0.008 \text{ng/ml}$ 인데 비해 逍遙散 1×와 5×를 投與한 實驗群에서는 $0.079 \pm 0.005 \text{ng/ml}$ 와 $0.082 \pm 0.003 \text{ng/ml}$, $0.210 \pm 0.010 \text{ng/ml}$ 와 $0.180 \pm 0.010 \text{ng/ml}$ 로 有意性있게 增加하였다(Fig. 12, 13). 반면에 ACTH와 cortisol의 경우, stress 負荷群은 $284 \pm 8 \text{pg/ml}$ 와 $47 \pm 4 \mu\text{g/ml}$ 인데 비해 逍遙散 1×와 5×를 投與한 實驗群에서는 $182 \pm 7 \text{pg/ml}$ 와 $161 \pm 6 \mu\text{g/ml}$, $31 \pm 5 \text{pg/ml}$ 와 $26 \pm 5 \mu\text{g/ml}$ 로 有意性있게 減少하였다(Fig. 14, 15). 이 結果 stress를 받은 狀態에서 增加하는 ACTH나 cortisol의 濃度는 減少하고, 蛋白質 合成에 關與하여 組織의 重量을 增加시키는 GH와 DHEA의 濃度가 增加한 것으로 보아 逍遙散 投與 후 스트레스를 感受하는 狀態가 改善된 것으로 思料된다.

以上の 實驗結果로 보아 逍遙散을 前 投與하였을 때, stress를 받은 생쥐에 있어서 生體內 및 試驗管內에서 大食細胞의 食食能을 增加시키고 反應酸素中間物質의 生成 역시 增加시킬 뿐 아니라, 綿羊赤血球에 대한 rosette 形成細胞 역시 增加시키고, T細胞 亞型의 比率에도 影響을 미쳐서 CD4⁺細胞의 比率을 增加시킨 것으로 보아 個體의 特異的 및 非特異的 免疫系에 作用하여 宿主의 免疫 機能을 亢進시킴을 알 수가 있었으며, 이러한 免疫機能의 亢進으로 성장호르몬이나 DHEA도 增加되고, 스트레스를 받았을 때 增加하는 ACTH나 cortisol은 減少하였는데, 이는 逍遙散이 stress로 인한 免疫機能의 低下로 發生할 수 있는 疾患에 廣範圍하게 活用할 수 있을 것으로 思料된다.

V. 結 論

逍遙散 煎湯液이 stress를 받은 생쥐의 免疫細胞 機能에 미치는 影響을 알아보기 위하여 生體內 및 試驗管內에 投與하여 免疫 反應에 變化를 觀察하고 이러한 變化가 體內的 免疫系에 미치는 影響에 대하여 調査하였던 바 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 逍遙散은 스트레스 하에서 생쥐의 體重減少를 抑制시켰다.
2. 逍遙散은 生體 및 試驗管內에서 大食細胞의 食食能을 增加시켰다.
3. 逍遙散은 生體 및 試驗管內에서 superoxide 및 hydrogen peroxide 같은 反應酸素中間物質의 生成을 增加시켰다.
4. 逍遙散을 試驗管內에서 投與했을 때 反應窒素中間物質의 生成能에는 影響을 주지 않았다.
5. 逍遙散은 脾臟에서 rosette 形成細胞의 數를 增加시켰다.
6. 逍遙散은 CD4⁺ T細胞를 增加시키고 CD8⁺

T細胞를 減少시키며 helper T cell과 suppressor T cell의 比率를 變化시켰다.

7. 逍遙散은 lymphoma cell에 대한 細胞毒性 能을 增加시켰다.

8. 逍遙散은 성장 호르몬과 DHEA를 增加시킨 반면 ACTH와 cortisol은 減少시켰다.

以上の 實驗 結果를 土臺로 하여 볼 때 逍遙散은 stress를 받은 생쥐에 있어서 生體內 및 試驗管內에서 個體의 特異的 및 非特異的 免疫系에 作用하여 宿主의 免疫 機能을 充進시킴을 알 수가 있었으며, 이러한 免疫機能의 充進으로 성장호르몬이나 DHEA도 增加됨을 알 수 있었다. 이는 逍遙散이 stress로 인한 免疫機能의 低下로 發生할 수 있는 疾患에 廣範圍하게 活用할 수 있음을 뒷받침하는 實驗的 結果로 思料된다.

參考文獻

1. 文洸模 : Stress에 관한 東西醫學的 考察, 大田大學校 論文集, 6(2): 301~311, 1987.
2. 黃義完 : 心身症, 杏林出版社, 서울, pp.27~28, 39, 43~48, 90, 169, 1985.
3. 金相孝 : 東醫神經精神科學, 서울, 杏林出版社, pp.1, 258~259, 277~279, 358, 360~361, 1980.
4. 이수원 外 : 심리학, 서울, 정민사, pp.274~275, 1993.
5. 홍대식 : 심리학개론, 서울, 博英社, pp.603~608, 1992.
6. 金榮煥 : 臨床心理學原論, 서울, 하나醫學社, pp.70~74, 1989.
7. 朴貴永 : 夏朮補心丹의 抗스트레스 效果에 관한 實驗的 研究, 大田大學校 大學院, 1995.
8. 田中正敏 : 스트레스의 科學, 서울, 明志出版社, pp.108~121, 1991.
9. 오오키 고오스케 : 腦의 秘密, 서울, 정신세계사, pp.84~93, 1993.
10. 閔聖吉 : 最新精神醫學, 서울, 一潮閣, p.85, 1980.
11. 黃義完·金知赫 : 東醫精神醫學, 서울, 現代醫學書籍社, pp.54, 99~109, 651~655, 665, 1987.
12. 金鍾佑 : 스트레스의 韓醫學的 理解, 東醫神經精神科學會誌, 4(1):19~26, 1993.
13. 嚴賢燮 : 情緒(七情)와 스트레스 關係에 관한 理論的 研究, 東西醫學, 17(4): 5~20, 1992.
14. 宋點植 : stressor에 따른 身體生理反應에 대한 東醫學的 考察, 大韓韓醫學會誌, 4(2): 43~47, 1983.
15. 金貞烈 : 스트레스에 依한 白鼠 血清中 Glucose alc 酵素에 對한 加味逍遙散의 效果, 慶熙大學校 大學院, 1984.
16. 柳熙英 : 東醫精神科學, 서울, 南山堂, pp.4

- 9~53, 60~61, 1089.
17. 金完熙·崔達永 : 臟腑辨證論治, 서울, 成輔社, pp.141~148, 1990.
 18. 方藥中外 : 實用中醫內科學, 上海, 上海科學技術出版社, pp.19~20, 1986.
 19. 宋鷺冰 : 中醫病因病機學, 北京, 人民衛生出版社, p.201, 1987.
 20. 大韓東醫生理學會 : 東醫生理學, 서울, 慶熙大學校 出版局, pp.282~290, 1993.
 21. 陳師文 外 : 太平惠民和劑局方(四庫全書, 第743冊) 麗江出版社, p.653, 1989.
 22. 江克明, 包明惠 : 簡明方劑辭典, 上海, 上海科學技術出版社, pp.896~897, 1989.
 23. 陳偉, 路一平 : 方劑學, 上海, 上海中醫醫院出版社, pp.98~100, 1990.
 24. 趙世衡 : 素虛後世處方學, 서울, 癸丑文化社, p.223, 1984.
 25. 鄭津牟 : 中醫處方解說·臨床應用, 서울, 癸丑文化社, pp.296~297, 1973.
 26. 康舜洙 : 方劑學, 서울, 癸丑文化社, pp.99~100, 1991.
 27. 申載鏞 : 方藥合編解說, 서울, 成輔社, pp.193~195, 1989.
 28. 陸昌洙 : 現代方藥合編, 서울, 癸丑文化社, pp.222~223, 586~587, 1973.
 29. 薄榮順 : 韓方の 藥理解說, 서울, 翰成社, pp.37~41, 1991.
 30. 許浚 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, pp.446~447, 1979.
 31. 康舜洙 : 바른 方劑學, 서울, 大星文化社, pp.140~141,
 32. 上海中醫學院 : 方劑學, 上海, 商務印書館, pp.82~84, 1975.
 33. 宗金和 : 中醫方劑通譯, 河北, 河北科學技術出版社, pp.216~217, 1995.
 34. 崔銀洙 : 逍遙散·加味逍遙散의 效能에 關한 實驗的 研究, 東義大學校 大學院, 1995.
 35. 任智永 : 逍遙散加減의 鎮痛, 消炎 및 女性 癌細胞에 對한 實驗的 研究, 大田大學校 大學院, 1997.
 36. 曹賢珠 : 抗癌化學療法劑의 細胞毒性 및 腫瘍細胞의 라이소솜에 미치는 逍遙散加味方의 影響, 圓光大學校 大學院, 1996.
 37. 許珍榮 : 흰쥐의 回轉能에 關한 逍遙散의 效果, 大邱韓醫科大學 大學院, 1987.
 38. 金昭延 : 加味逍遙散이 스트레스로 因한 白鼠의 乳汁過多分泌에 미치는 影響, 慶山大學校 大學院, 1994.
 39. 金点洙 : 加味逍遙散의 抗스트레스 效果에 對한 實驗的 研究, 慶熙大學校, 1989.
 40. 과학백과사전종합출판사 : 東醫學事典, 서울, 도서출판 까치, p.539, 1990.
 41. 漢醫學大辭典編纂委員會 : 漢醫學大辭典, 서울, 東洋醫學研究院 出版部, p.7, 1989.
 42. 金賢濟·洪元植 : 漢醫學辭典, 서울, 成輔社, pp.126~127, 1991.
 43. Biozzi G., Stiffel, C., Mounton, 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.
 44. Miller, T.E.et al : Immunopotential with BCGII, modulation of the response to sheep red blood cells, J.Nat. Cancer Inst., 51:16669, 1973.
 45. 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.
 46. Davis, A.J.S.et al : The failure if thymus~derived cells to produce antibody Transplantation, 5:222, 1967.
 47. Austyn, J.M. and Gordon, S. : F4/80: monoclonal antibody directed specifically against the mouse macrophage. Eur.J.Immunol., : 805~815, 1981.

48. 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.
49. 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.
50. 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.
51. 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.
52. 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.
53. 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.
54. 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.
55. Sells, S. : Immunology, immunopathology and immunity, Hagerstown, Maryland, Harper & Row pub., pp.114~171, 1980.
56. 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.*, p.235, 48, 1972.
57. 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.
58. 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
59. Avrameas, L., Bach, J. F and Preudhomme, J. L : Antibody formation at the cellular level in immunology, John Wiley & Sons Inc., New York, pp. 508~513, 1982.
60. Bach, J.F., Dardenne M. : Antigen Recognition by T Lymphocytes, *Cellular Immunology*. Vol 3. pp.1~10, 1972.
61. Schmid, D. S. : The human MHC-restricted cellular response to herpes simplex virus type I is mediated by CD4 helper(+), CD8 suppressor(+) T cells and restricted to the DR region of the MHC Complex. *J.Immunol.*, 140:3610~3616, 1988.
62. Soerskaar, D., Foerre, Oe., Albrechtsen, D. and Slavem, P. : Natural cytotoxicity in adult acute leukemia. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 86:190~195, 1988.

63. 朴一洪 : 黃帝內經素問, 서울, 松山出版社, pp.61~95, 1982.
64. 金容文 : 調胃升清湯의 抗stress 效果에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校 大學院, 1988.
65. 申容澈 : 少陰人 補中益氣湯의 抗stress 效果에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校 大學院, 1987.
66. 朴仁 : 補血安神湯이 拘束스트레스 흰쥐의 體重 및 血液成分에 미치는 影響, 慶熙韓醫大 論文集, 14:431~448, 1991.
67. 金斗煥 : 丹參補血湯, 加味丹參補血湯의 抗心理的 스트레스 效果에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校 大學院, 1989.
68. 權保亨 : 拘束스트레스 흰쥐에 미치는 四物安神湯의 效能에 關한 研究, 大田大學校 大學院, 1994.
69. 金知赫 : 天王補心丹加味方의 抗스트레스 效果에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校 大學院, 1988.
70. 具炳壽 : 木香順氣散의 抗스트레스 效果에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校 論文集, 13:171~187, 1987.
71. 趙英度 : 六鬱湯이 拘束스트레스 흰쥐의 胃潰瘍 및 血中 catecholamine 含量에 미치는 影響, 慶熙大學校 大學院, 1992.
72. 金起代 : 交感丹과 蘇合香元 投與後 抗STRESS 關與 HORMONE含量 變化에 對한 實驗的 考察, 경산대학교 대학원, 1993.
73. 曹眞榮 : 歸脾溫膽湯의 抗스트레스 效果에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校 大學院, 1991.
74. 金基玉 : 祛痰清心湯의 抗stress 效果에 對한 實驗的 研究, 慶熙大學校 大學院, 1985.
75. 張昌圭 : 祛痰清心湯의 스트레스 抑制效果에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校 大學院, 1986.
76. 金斗煥 : 歸脾溫膽湯의 抗스트레스 效果에 對한 實驗的 研究, 慶熙大學校 論文集, 9:523, 1986.
77. 姜頊瑢 : 半夏白朮天麻湯이 拘束스트레스 白鼠의 血清成分含量과 鎮痙作用에 미치는 影響, 大田大學校 大學院, 1996.
78. 金成浩 : 清肝逍遙散의 抗스트레스 效果에 關한 實驗的 研究, 大田大學校 大學院, 1995.
79. 李相龍 : 溫膽湯과 四物安神湯 및 柴胡疏肝散이 肥滿 및 스트레스에 미치는 影響, 東醫神經精神科學會誌, 3(1): 22~45, 1992.
80. 黃度淵 : 方藥合編, 서울, 南山堂, p.269, 1984.
81. 樓英 : 醫學綱目, 서울, 一中社, p.155, 1984.
82. 吳謙 : 醫宗金鑑(中), 서울, 大星文化社, p.350, 1983.
83. 汪詡庵 : 醫方集解, 臺北, 文光圖書有限公司, pp.118~119, 1975.
84. 尹吉榮 : 東醫方劑學, 서울, 高文社, pp.52~53, 232~233, 247~248, 1971.
85. 辛民教 : 臨床本草學, 서울, 永林社, pp.172~173, 175~177, 221~224, 232~233, 250~252, 528~529, 538~540, 1986.
86. 申佶求 : 申氏本草學, 서울, 壽文社, pp.13~20, 80~88, 112~114, 228~236, 245~247, 357~362
87. 顏正華 : 中藥學, 北京, 人民衛生出版社, pp.187~189, 101~103, 327~329, 742~746, 751~758, 823~828, 1991.
88. 上海中醫學院 : 中草藥學, 上海, 商務印書館, pp.47~48, 57~60, 227~228, 520~521, 525~527, 564~567, 574~575, 1975.
89. 金知昱 : 分心氣飲의 스트레스 抑制效果에 對한 實驗的 研究, 慶熙大學校 大學院, 1989.
90. 韓晟圭 : 스트레스에 의한 白鼠의 病理變化 및 香附子八物湯의 效能에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校 論文集, 14:225~270, 1991.
91. Suny, S. S. J., Nelson, R. S. and Skilverstin, S. C. : Yeast mannose inhibits binding and phagocytosis of

- zymosan by mouse peritoneal macrophages. J. Cell. Bio, p106, 1983.
92. 鄭憲鐸 : 알기쉬운 免疫生物學, 서울, 행암사, pp.93~226, 1991.
93. Drapier, J. C., Wietzerbin, J. B. Hibbs : Interferon-T and tumornecrosis factor the L-arginine-dependent cytotoxic effector mechanism in murine macrophages. Eur. J. Immunol., 141:2407, 1988.
94. Chung, H. T., Samlowski, W. E., and Daynes, R. A. : Modification of the murine immune system by glucocorticosteroids of circulation lymphocytes, Cell. Immunol., 101:571~585, 1986.
95. Ivan Roitt, Jonathan Brostoff, David Male : Immunology(Third edition), London, England, Mosby-Year Book Europe Ltd., 6:9~14, 1993.
96. 성호경 外 5人 : 생리학(4판), 서울, 의학문화사, pp.322, 325, 331~335, 1989.
97. Francis S. Greenspan, M. D., Peter H. Forsham, M. D. : Basic & Clinical Endocrinology, Log Altos, LANGE Medical Pub, pp.46~47, 272, 283, 1986.
98. Orten, James M, Ph. D., Otto W. Neuharr, Ph. D. : Human Biochemistry, Missouri, Mosby, pp.603~609, 624, 1975.
99. Arthur C. Guyton, M. D. : Textbook of MEDICAL PHYSIOLOGY(Eighth Edition), Philadelphia, W. B. Saunders co. pp.819~820, 822~824, 846~852, 893, 1991.
100. 李洸模 : 精神醫學辭典, 서울, 一潮閣, p.272, 1990.
101. 李洸模 : Stress에 관한 文獻的 考察, 동의 신경정신과학회지, 2(1):38~50, 1991.
102. 백인호 : Stress에 따른 생물학적 반응, 서울, 정신건강연구, 10:51~64, 1991.
103. 李丙允 : 精神醫學辭典, 서울, 一潮閣, p.272, 1989.
104. 張潤錫 : 人蔘이 副腎皮質機能에 미치는 影響에 관한 臨床的 研究, 大韓醫學協會誌, 24:4, 327, 1981.
105. 鄭泰卿 : 스트레스와 그에 대한 對應反應에 관한 考察, 高麗大學校 大學院, 1972.
106. 楊維傑 : 黃帝內經素問譯解, 서울, 成輔社, pp.42~61, 299, 306, 1980.
107. 楊維傑 : 黃帝內經靈樞釋, 서울, 成輔社, p.468, 1980.
108. 李尙仁 外 : 韓藥臨床應用, 成輔社, 서울, pp.51~53, 63~65, 151~154, 323~327, 357~362, 371~372, 1990.
109. 啓業書局有限公司 : 抗癌中草藥, 臺北, 啓業書局, pp.149~150, 282~283, 253~255, 317~319, 1988.
110. 鄭普燮 外 : 圖解 鄉藥(生藥)大事典, 서울, 永林社, pp.41~43, 177~179, 407~408, 412~414, 524~526, 684~687, 851~852, 1026, 1990.
111. 新文豐出版公司 : 中藥大辭典, 臺北, pp.544~550, 566~570, 600~603, 1262~1267, 1593~1596, 1945~1949, 2200~2204, 2630~2632, 1982.
112. 王浴生 : 中藥藥理與應用, 北京, 人民衛生出版社, p.267, 328, 768, 1983.
113. 羅暎杰 : 白朮과 枸杞子가 생쥐의 細胞性 및 體液性 免疫反應에 미치는 影響, 慶熙大學校, 서울, 1987.
114. 邱佳信 外 : 健脾中藥防治消化道惡性腫瘤的作用原理研究, 上海, 中醫學雜誌, 6:45~47, 1987.
115. 韓宗鉉 : 甘草의 免疫調節作用에 관한 研究, 全州, 全州又石大學校, 1991.
116. 陳修園 外 : 本草三家合註, pp.17~20, 30~31, 51~52, 66~67, 101~103, 서울, 一中社
117. 문혜선, 함용호, 정인성, 조성기, 홍석일, 박은규, 윤연숙 : 당귀추출물이 면역계에 미치는 영향, 大寒免疫學會誌 12(1):113~118, 1990.
118. 문은이, 박승용, 박은규, 조성기, 윤연숙 :

- 당귀추출물이 면역계에 미치는 영향(II),
大寒免疫學會誌 13(1):71~76, 1991.
119. DePeritti, E. and Forest, M.G. : Pattern of plasma dehydroepiandrosterone sulfate level in human from birth to adulthood : evidence for testicular production. *J. Clin. Endocrinol. & Metab.*, 47:572, 1978.
120. Gordon, G.B., Roeder, W.S., Laxer, J.A., Townsend, K.S., Weaver, C.T., Hom, J.T., Linton, J., Torgett, B.E. and Glasebrook, A.L. : A new murine CD4⁺ T cell subset with an unrestricted cytokine profile. *J. Immunol.*, 143:518, 1989.
121. Orrentreich, N., Brind, J.L., Rizer, R.L. and Vogelmann, J.H. : Age changes and sex differences in serum dehydroepiandrosterone sulfate concentrations throughout adulthood. *J. Clin. Endocrinol. & Metab.*, 59:551, 1985.
122. Regelson, W., Loria, R. and Kalimi, M. : Hormonal intervention : "duffer hormones" or "state dependency". the role of dehydroepiandrosterone and hypophysectomy in aging. *Ann. NY Acad. Sci.*, 521:260, 1988.
123. Daynes, R.A., Dudley, D.J. and Araneo, B.A. : Regulation of murine lymphokine production in vivo. II. Dehydroepiandrosterone is a natural enhancer of IL-2 synthesis by helper T cells. *Eur. J. Immunol.*, 20:793, 1990.
124. Daynes, R. A., Araneo, B. A., Dowell, T.A., Huang, K. and Dudley, D.J. : Regulation of murine lymphokine production in vivo. III. The lymphoid tissue microenvironment exerts regulatory influences over T helper cell function. *J. Esp. Med.*, 171:979, 1990.
125. Garra, A. : Peptide regulatory factors. Interleukins and the immune system. *Lancet.* i:943, 1989.
126. Giguere, V., Yang, N., Segui, P. and Evans, R.M. : Identification of a new class of steroid receptors. *Nature*, 331:91~94, 1988.
127. Hamblin, A.S. : Lymphokines and interleukins. *Immunology*, 1:39~41, 1988.
128. Mosmann, T.R. and Coffman, R.L. : Th1 and Th2 cells : Different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Ann. Rev. Immunol.* 7:145~173, 1989.
129. Nakane, A., Minagawa, T. and Kato, K. : Endogenous tumor necrosis factor (cachectin) is essential to host resistance against *Listeria monocytogenes* infection. *Infect. Immun.*, 56:2563~2569, 1988.
130. Rigby, W.F.C., Denone, S. and Fanger, M.W. : Regulation of lymphokine production and human T lymphocyte activation by 1, 25-dihydroxyvitamin D₃. *J. Clin. Invest.*, 79:1659~1664, 1987.
131. Swain, S.L., McKenzie, D.T., Weinberg, A.D. and Hancock, W. : Characterization of T helper 1 and 2 cell subsets in normal mice : Helper T cells responsible for IL-4 and IL-5 production are present as precursors that require priming before they develop into lymphokine-secreting cells. *J. Immunol.*, 141:3445~3455, 1988.
132. Glen R. Vanloon, Richard Kvetňanský, Richard McCarty, Julius Axelrod : STRESS Neurochemical and Hunoral Mechanisms, Gordon and Breach Acience Publishers, pp.1~4, 1987.
133. Cary L. Cooper : Stress Reearch, John Wiley & sons Ltd., pp.1~20, 1983.

ABSTRACT

**Effects of *Soyosan* Water Extract on
the Immune-depressed Mice Induced by Stress**

Kim, Jae Sub

Dept. of Oriental Medicine, Graduate School of Wonkwang University.

Directed by prof. Moon, Seok Jae, O. M. D., Ph. D.

The more society has complicated, the more we have met stressful circumstance. And it is found that many physical and mental symptoms induced by stress.

Soyosan(SYS) is one of the well-known oriental medicine for the treatment of general syndrome induced by emotional stress.

This study was taken to know effects of SYS water extract on immune-depressed mice induced by stress.

The results obtained in this study were as follows :

1. SYS inhibited murine weight-loss induced by stress
2. *In vivo* & *in vitro*, SYS increased phagocytic activity.
3. SYS enhanced the production of such reactive oxygen intermediates as superoxide and hydrogen peroxide from macrophages.
4. *In vitro*, SYS little influenced the production of reactive nitrogen intermediates.
5. SYS increased the number of the rosette forming cells of spleen.
6. SYS changed the ratio of helper and suppressor T cells by increasing CD4⁺ T cells and decreasing CD8⁺ T cells.
7. SYS increased cytotoxic activity on human lymphoma cell line(K562).
8. SYS increased the plasma level of GH and DHEA, whereas it decreased that of ACTH and cortisol.

According to the above results, it might be considered that SYS would be used for immune-depressive disease induced by stress.