

# 丹蔘 수침액에 의한 복강대식세포로부터 산화질소의 발생

원광대학교 한의과대학 소화기내과학교실\*

曹賢珠 · 文錫哉\*

## ABSTRACT

### Nitric Oxide Generation from Peritoneal Macrophages by Salvia miltiorrhiza Root Water Extract

Jo Hyun-Ju, Moon Seok Jae\*

Department of Digestive Internal Medicine, College of Oriental  
Medicine, Wonkwang university

Dansam, the root of *Salvia miltiorrhiza* Bge. (Labiatae), has a bitter taste and a slightly "cold" property, and is nontoxic. In the present study, effect of Dansam on nitric oxide (NO) generation from peritoneal macrophags was examined. Dansam had no effect on NO generation by itself, whereas recombinant interferon- $\gamma$  (rIFN- $\gamma$ ) alone had modest activity. When Dansam was used in combination with rIFN- $\gamma$ , there was a marked cooperative induction of NO generation in a dose-dependent manner. The optimal effect of Dansam on NO generation was shown at 6 hr after treatment with rIFN- $\gamma$ . Furthermore, the effect of Dansam was mainly dependent on Dansam-induced

---

접수일 : 1999. 6. 13

심사일 : 1999. 7. 15

tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) secretion. These results suggest that Dansam induces NO generation from macrophages by the result of Dansam-induced TNF- $\alpha$  secretion.

Keywords: Dansam, Nitric oxide, Peritoneal macrophages. Recombinant interferon- $\gamma$ , Tumor necrosis factor- $\alpha$

## I. 緒論

癌은 惡性腫瘍을 指稱하는 것으로서 韓醫學에서는 癭, 瘤, 癥瘕, 積, 聚, 反胃, 疝癖, 乳岩 등의 範疇에 속한다.<sup>1)</sup> 韓醫學에서는 이러한 惡性腫瘍의 發生原因으로 臟腑陰陽氣血의 機能이 外感邪氣와 七情內傷 등의 영향을 받아 機能을 失調하여 痰凝, 濕聚, 氣滯, 血瘀, 熱毒蘊蓄 등의 病理機轉으로 발생한다고 하였고,<sup>2)</sup> 素問 《刺法論》에 “正氣存內 邪不可干”<sup>3)</sup>, 《評熱病論》에 “邪氣所湊 其氣必虛”<sup>3)</sup>라고 하여 正氣와 邪氣의 相互關係에 의한 病理機轉을 나타내었다. 그러므로, 이에 대한 治法도 臟腑陰陽氣血의 虛實에 따라 人體의 生命活動의 原動力이고 人體의 內外環境에 적응하여 病邪에 防禦하는 能力인 正氣를 도와주는 扶正培本法과 人體를 致病케 하는 각종 發病原因이 되는 邪氣를 몰아내는 攻邪法, 그리고 이러한 正氣와 邪氣를 동시에 다스리는 扶正祛邪法의 세가지로 분류된다. 특히 扶正祛邪法은 人體의 恒常性을 유지하도록 하는 免疫系의 機能과 부합되는 治療法으로서,<sup>4)</sup> 癌의 治療에 이용되거나 免疫機能을 上昇시키는 韓方 製劑들을 이용하여 기존의 抗癌劑와 併用投與시 抗癌效果를 增進시키고, 副作用을 減少시킬 수 있는 研究結果들이 많이 보고되고 있다.<sup>5-6)</sup>

丹蔘(Salvia miltiorrhiza BGE.)은 꿀풀과(脣形

科, Labiatae)에 속한 多年生草本인 丹蔘 및 同屬 近緣植物의 根으로 味는 苦하고, 性은 微寒無毒하며, 心과 肝으로 歸經하여 活血祛瘀, 養血安神하는 效能이 있어 血熱과 瘀血이 있는 모든 証에 응용된다. 아울러 消腫止痛하는 效果가 있으므로 癥疹, 癰腫, 瘡瘍 등의 証에도 응용한다.<sup>7-11)</sup>

Nitric oxide (NO, 산화질소)는 매우 불안정하며, 반응성이 강한 물질로서 생체내에서 다양한 작용을 하고 있다.<sup>12-14)</sup> NO를 합성하는 효소는 크게 구성성 효소 (constitutive NO synthase, cNOS)와 유도성 효소 (inducible NO synthase, iNOS)로 구분되며, 전자는 이미 세포내에 존재하는 단백질로 어떤 자극에 의하여 활성을 갖게 되는 것이고 후자는 자극에 반응하여 새로운 단백질이 합성되는 것이다.<sup>15-16)</sup> NO는 리포다당 (lipopolysaccharide, LPS)을 투여한 실험동물에서 많은 양의 nitrate가 배설된다고 알려진 후에,<sup>17)</sup> 대식세포가 재조합 인터페론 감마 (recombinant interferon- $\gamma$ , rIFN- $\gamma$ )와 LPS에 의해 활성화되어 nitrite와 nitrate를 발생시키고,<sup>16)</sup> 이 nitrite와 nitrate는 대식세포에서 발생된 NO에서 유래하는 것이 증명되었다.<sup>18)</sup> NO는 대식세포의 항미생물작용과 항암작용의 중요한 매개물이라는 사실이 많은 연구자들에 의하여 밝혀졌다.<sup>14,19-21)</sup>

이에 본 연구에서는 活血祛瘀, 養血安神, 消腫止痛하는 效果가 있는 丹蔘이 생쥐 복강에서 분리한 腹腔大食細胞에 대한 "second signal"로 작용하여 NO 생성을 증가시키고 tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ , 종양괴사인자- $\alpha$ )를 생성하는

사실을 報告하고자 한다.

## II. 實驗材料 및 方法

### 1. 實驗재료

1) 實驗동물 - 대한실험동물센터에서 구입한 8~12 주 사이의 C57BL/6계 마우스를 사용하였다.

2) 시약 - Murine recombinant IFN- $\gamma$ 는 Genzyme (Munche, Germany)에서, RPMI 1640, L-arginine, arginase, N-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride, sodium nitrite, sulfanilamide는 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. N<sup>6</sup>-monomethyl-L arginine (N<sup>6</sup>MMA)은 C-albiochem (San Diego, CA, USA)에서 구입하였다.

### 3) 實驗藥材 및 調製

實驗에 사용한 丹蔘은 圓光大學校 韓方病院에서 購入하여 精選한 후 使用하였고, 丹蔘 50g에 蒸溜水 500ml를 加하여 70℃에서 5시간동안 加熱한 후 0.45m membrane filter로 濾過滅菌한 濾液을 冷凍乾燥하여 使用하였다.

### 2. 方法

1) 대식세포의 배양 - 생쥐의 복강내에 4% thioglycollate 1 ml를 주사하고 4일 후에 복강을 RPMI 1640으로 세척하여 얻은 다음 저장액처리를 하여 적혈구를 제거하고 10% 우태혈청을 함유하는 RPMI 1640에 부유시켜, 96-well plate의 한 well 당  $2 \times 10^5$  세포 혹은 10cm<sup>2</sup> 페트리 접시당  $1 \times 10^7$  세포가 되도록 분주하여 CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양하였다. 약 3시간 후에 배양액을 교환하여 배양용기 표면에 부착되지 않은 세포는 제거하고, 부착된 대식세포만을 실험에 사용하였다.

2) NO발생량 측정 - 대식세포에서 발생된 NO의 양은 배지에 축적된 NO의 산화물인 nitrite를 Griess 반응으로 정량하였다.<sup>40)</sup> 즉 0.1% naphthylethylene diaminedihydrochloride와 1% sulfanilamide를 동일양 섞은 Griess reagent 50 $\mu$ l와 배양액 50 $\mu$ l를 섞은 다음 10분 후에 ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) reader (Bio Tek Instruments)를 이용하여 550nm에서 흡광도를 측정하였다. Nitrite의 농도계산은 sodium nitrite를 표준물질로 사용하여 결정하였다.

3) TNF- $\alpha$ 의 측정 - TNF- $\alpha$ 의 정량은 Scuderi 등<sup>41)</sup>이 보고한 방법인 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)로 수행하였다. 즉 항 TNF- $\alpha$  capture mAb는 flat-bottomed 96-well plate (Corning, Rochester, NY)에 코팅 완충액 (0.02% sodium azide를 함유한 PBS(Phosphate Buffered Saline))을 이용하여 각 well당 최종 농도 6.25 ng으로 처리한 후 4℃에서 12시간 코팅하였다. 그후 0.05% tween 20을 함유한 인산 완충액 (PBS)인 세척 완충액으로 4회 세척한 다음 비특이적 결합을 방지하기 위하여 2% BSA(Bovine Serum Albumin)를 함유한 PBS (blocking buffer)를 첨가하여 37℃에서 2시간 동안 배양하였다. 다시 세척 완충액으로 4회 세척 후 재조합 생쥐 TNF- $\alpha$  표준액과 각 sample의 배양상등액을 각 well에 100  $\mu$ l씩 가하고 37℃에서 2시간 동안 배양하였다. 다시 세척 완충액으로 4회 세척 후 토끼 항 TNF- $\alpha$ 를 1% BSA를 함유한 PBS를 이용하여 7.8ng/ml 농도로 희석한 후 well에 처리하여 37℃에서 2시간 동안 배양하였다. 다시 세척 완충액으로 7회 세척 후 phosphatase가 결합된 염소 항 쥐 IgG (Sigma Co.)를 well당 10ng 농도로 처리한 다음 37℃에서 2시간 배양한 후 7회 세척하였다.마지막 세척 후 0.05 M NaHCO<sub>3</sub>와 0.05 mM MgCl<sub>2</sub>로 조성된 기질 완충액에 용해시킨 p-nitro phenyl phosphate 발색제를 각 well에 100  $\mu$ l씩 가하여 10분간 발색을 유도한 다음 ELISA reader를 이용하여 405nm 파장

에서 흡광도를 측정하였다.

4) 통계학적 분석 - 모든 자료는 means  $\pm$  SD로 나타내었으며, 유의성검사는 student's t-test로 행하였다. 유의 수준은  $p < 0.01$ 로 하였다.

### III. 實驗結果

#### 1. 생쥐의 복강 대식세포로부터 NO 합성에 있어서 단삼의 효과

생쥐복강대식세포에 배지 단독 혹은 rIFN- $\gamma$  (5 U/ml)을 함유한 배지에 단삼 수침액 (100  $\mu$ g/ml)을 처리한 후 48 시간 동안 배지에 축적된 nitrite의 양을 측정하였다. Table I에 나타낸 바와 같이 단삼만으로는 NO 합성이 유도되지 않은 반면에 rIFN- $\gamma$ 와 함께 처리했을 때 NO 합성이 상승적으로 증가하였다. 단삼은 rIFN- $\gamma$  처리 6 시간 후에 최대의 효과를 나타내었다. 단삼의 농도 의존적 효과는 Fig. 1에 나타내었다. rIFN- $\gamma$ 를 처리한 대식세포에 100 $\mu$ g/ml의 단삼을 추가했을 때 가장 큰 상승효과를 나타내었고 1 $\mu$ g/ml보다 적은 농도에서는 nitrite의 양이 현저하게 감소하였다.

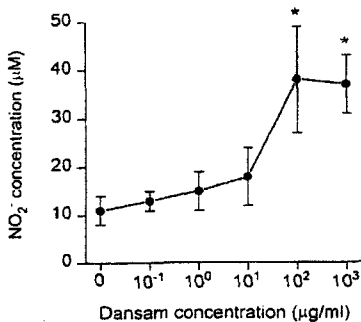


Fig. 1—Dose-dependent effects of Dansam for NO release on the rIFN- $\gamma$ -treated macro-

phages. Cells ( $5 \times 10^6$  cells/well) were incubated for 6h in medium containing rIFN- $\gamma$  (5U/ml), stimulated with Dansam and incubated in a  $\text{CO}_2$  incubator. NO synthesis was measured by the method of Griess (nitrite). Values are means  $\pm$  SD of seven independent experiments. Significantly different from the control, \*:  $p < 0.01$ .

Table I - Synergistic cooperation between rIFN- $\gamma$  and Dansam to induce NO synthesis in mouse peritoneal macrophages

Addition		Final concentration ( $\mu$ M)
rIFN- $\gamma$	Dansam	$\text{NO}_2^-$
None	None	<5
+	None	11 $\pm$ 3
None	+ (0 h)	<6
+	+ (0 h)	22 $\pm$ 6*
+	+ (3 h)	23 $\pm$ 2*
+	+ (6 h)	38 $\pm$ 11*
+	+ (9 h)	35 $\pm$ 8*

TG-elicited macrophages were cultured either in medium alone or in medium containing rIFN- $\gamma$  (5U/ml). The cells were stimulated with Dansam (100 $\mu$ g/ml) at various times after incubation. The amount of  $\text{NO}_2^-$  released by macrophages was measured after 48 hr of incubation. Values are means  $\pm$  SD of three experiments. \* $P < 0.01$ ; Significantly different from the control group.

#### 2. 단삼 유도성 NO 합성 신호기작 경로의 규명

단삼 유도성 NO 발생 신호기작이 L-arginine 의존적 경로인가를 알아보기 위하여 대식세포를 rIFN- $\gamma$ 와  $\text{N}^G\text{MMA}$  혹은 rIFN- $\gamma$ 와 arginase 존재하에서 6시간 동안 배양한 다음 단삼을 처리하여 다시 42시간 동안 배양하였다. 대식세포에서 rIFN- $\gamma$ 와 단삼에 의한 nitrite의 생성은  $\text{N}^G\text{MMA}$  (Fig. 2)와 arginase (Fig. 3)의 농도 의존적으로 현저하게 감소하였다. 이는 이들

L-arginine 동족체가 NO synthase 의존적인 것을 시사한다.

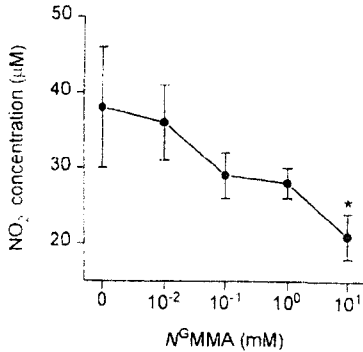


Fig. 2—Effects of N<sup>G</sup>MMA on NO synthesis from murine macrophages. The cells were treated with 5 U/ml rIFN- $\gamma$  plus 100 $\mu$ g/ml of Dansam. Then, the cells were incubated with various concentrations of N<sup>G</sup>MMA at 37 $^{\circ}$ C for 48h. NO release was measured by the method of Griess (nitrite). Values are means  $\pm$  SD of three experiments. Significantly different from the control, \*: p<0.01.

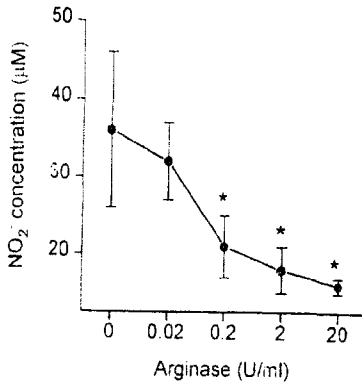


Fig. 3—Effects of arginase on NO synthesis from murine macrophages. The cells were treated with 5 U/ml rIFN- $\gamma$  plus 100 $\mu$ g/ml of Dansam. Then, the cells were incubated with various concentrations of arginase at 37 $^{\circ}$ C for 48h. NO release was measured by the

method of Griess (nitrite). Values are means  $\pm$  SD of three experiments. Significantly different from the control, \*: p<0.01.

### 3. TNF- $\alpha$ 의 분비에 있어서 단삼의 효과

단삼에 의한 NO 생성 기작을 이해하기 위하여 rIFN- $\gamma$ 와 단삼을 처리한 생쥐 복강대식세포에서 TNF- $\alpha$  분비량을 분석하였다. 생쥐 복강대식세포에 배지단독, IFN- $\gamma$  단독 혹은 단삼 단독만을 처리하고 24시간 후에 분석했을 때 TNF- $\alpha$ 의량은 매우 소량이었다. 그러나 IFN- $\gamma$ 와 단삼을 동시에 처리하고 배양했을 때 상승적으로 TNF- $\alpha$ 가 분비되었다 (Table 2).

Table II - Synergistic cooperation between rIFN- $\gamma$  and Dansam to induce TNF- $\alpha$  secretion in mouse peritoneal macrophages

Treatment	TNF- $\alpha$ secretion (ng/ml)
None (Saline)	0.092 $\pm$ 0.012
rIFN- $\gamma$	0.1678 $\pm$ 0.033
Dansam	0.103 $\pm$ 0.047
rIFN- $\gamma$ + Dansam	1.665 $\pm$ 0.480*

Microglial cells ( $5 \times 10^5$  cells/well) were cultured with either in medium alone or in medium containing rIFN- $\gamma$  (5U/ml). These cells were then treated with Dansam (100 $\mu$ g/ml), and cultured for 24 hr. TNF- $\alpha$  released into the medium is presented as the mean  $\pm$  SD of three independent experiments. \*P < 0.01; Significantly different from the control group.

### 4. PKC 억제제에 의한 TNF- $\alpha$ 의 분비 및 NO 합성에 미치는 효과의 분석

단삼에 의해 유도되는 신호전달과정에 protein

kinase C (PKC)가 관여하는 가를 분석하기 위하여 PKC 억제제인 staurosporin (STSN)을 IFN- $\gamma$ 와 함께 처리하였다. STSN은 단삼으로 유도되는 TNF- $\alpha$ 의 분비를 현저히 억제하였다 (Table 3). 마지막으로 단삼으로 유도되는 NO 발생이 단삼에 의한 TNF- $\alpha$  분비 의존적인가를 확인하였다. Fig. 4에 나타난 것처럼 단삼으로 유도되는 NO 발생은 항 TNF- $\alpha$  중화항체에 의해 현저하게 억제되었다.

Table III - Effect of STSN on TNF- $\alpha$  secretion by Dansam

Treatment	STSN	TNF- $\alpha$ secretion (ng/ml)
rIFN- $\gamma$ + Dansam	-	1.832 $\pm$ 0.362
"	+ (20nm)	1.653 $\pm$ 0.220
"	+ (200nm)	1.071 $\pm$ 0.135*

Microglial cells ( $5 \times 10^5$  cells/well) were cultured with either in medium alone or in medium containing rIFN- $\gamma$  (5 U/ml) in the absence (-) or presence (+) of STSN. These cells were then treated with Dansam (100  $\mu$ g/ml), and cultured for 24 hr. TNF- $\alpha$  released into the medium is presented as the mean  $\pm$  SD of three independent experiments. \*P < 0.01; Significantly different from the control group.

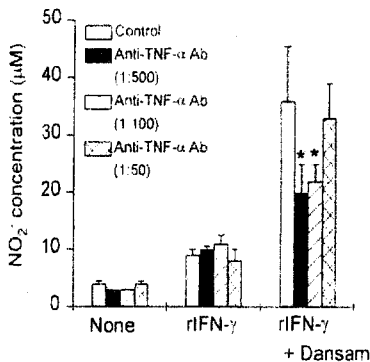


Fig. 4—Effect of anti-TNF- $\alpha$  neutralizing antibody on rIFN- $\gamma$  or rIFN- $\gamma$  plus Dansam

induced NO synthesis in peritoneal macrophages. TG-elicited microglial cells ( $5 \times 10^5$  cells/well) were stimulated with rIFN- $\gamma$  (5U/ml) or rIFN- $\gamma$  plus Dansam (100  $\mu$ g/ml), the cells were then treated with anti-TNF- $\alpha$  polyclonal antibody (dilution, 1:500, 1:100, 1:50). After 48hr of culture, NO release was measured by the Griess method (nitrite). NO (nitrite) released into the medium is presented as the mean  $\pm$  SD of three independent experiments each run in duplicate. Significantly different from the control, \*: p < 0.01.

## IV. 考 察

최근 50년간 우리나라에서도 疾病으로 因한 死 因중 癌이 급진적으로 증가추세를 보이면서, 正常 細胞에 대한 副作用을 最小化하면서 癌細胞에 選擇的으로 特異的破壞를 함으로써 完全殘滅할 수 있는 免疫學的 治療方法이 중요한 治療法으로 擡 頭되고 있는 실정이다.<sup>24-25)</sup>

韓醫學에서는 모든 疾病의 發生을 正邪의 觀點에서 설명하고 있는데, 正氣란, 각종 人體組織機關의 機能活動面에서 外部環境에 대한 適應力이며, 病因에 대한 抵抗力으로서,<sup>26)</sup> 原氣 혹은 眞氣라고도 하며, 生命活動의 原動力이 된다.<sup>27)</sup> 邪氣란, 人體의 疾病을 誘發하는 각종 有害因子로 六淫이나, 痰飲, 瘀血, 食積등이 이에 포함된다.<sup>4,26)</sup> 韓醫學에서 免疫에 대한 概念은 《素問. 刺法論》에 “正氣在內 邪不可干”이라 하였고, 《素問. 上古天真論》에 “眞氣從之 精神內守 病安從來”<sup>3)</sup>라고 하여 病邪에 대한 正氣의 抵抗力으로 免疫을 표현하고 있고, 《靈樞. 百病始生篇》에서 “風雨寒熱 不得虛邪 不得獨傷人 卒然逢疾風暴雨而不病者 蓋無虛故邪不能獨傷人”<sup>28)</sup>이라 하여 正氣虛弱이 疾病發生의 根本原因임을 나타내고 있다. 즉, 人體의 正氣가 強한가, 弱한가에 따라 邪氣에 대한 對處能力에

差異가 생겨 發病이 決定되므로 癌을 治療하는데 있어서도 正氣라 할 수 있는 免疫機能을 주로 補強하면서 邪氣를 除去할 수 있는 扶正祛邪法의 研究가 활발히 進行되고 있다.

西洋醫學的으로 免疫이란 生體가 自己와 非自己를 識別하는 機能으로서, 外部로부터 侵入하는 異物이나, 體內에서 發生한 變異細胞에 대해 이를 非自己로 認識하여 처리함으로써 個體의 恒常性을 維持하려는 生體防禦機構이다.<sup>29-30)</sup> 즉, 邪氣인 癌細胞에 대해 正氣인 免疫細胞增殖의 活性化를 促進시키면서 癌細胞의 增殖을 抑制할 수 있는 韓藥의 併用治療에 대한 研究가 絶對적으로 要求되어 진다고 생각한다.

본 연구에서 著者들은 항암작용이 있다고 보고된 NO를 발생시키는데 단삼을 이용한 결과 생쥐 복강대식세포에서 丹蔘이 rIFN- $\gamma$ 와 함께 시간 및 용량의존적으로 NO를 발생시키는 것을 발견하였다.

NO는 활성화된 macrophage 및 여러 세포에서 발견되는 것으로<sup>32)</sup> macrophage가 생산하는 NO가 抗癌作用이 있다고 최초로 보고된<sup>33)</sup> 이래, NO가 생체내에서 癌細胞를 攻撃하여 傷害시키는 Effector로서의 역할을 하고 있어서 癌細胞의 增殖을 抑制할 것으로 보인다. 이러한 NO는 많은 생물학자들에 의해 연구되어지고 있는데, 생체내에서 NO는 동맥이나 정맥 등 혈관의 이완뿐만 아니라 자궁의 이완에도 관여하며 신경계에서는 신호전달물질로 작용하고 혈소관의 응집이나 염증세포가 혈관의 내피세포에 부착되는 것을 억제시킨다.<sup>35-36)</sup> 또, NO는 면역계에 있어서 활성화된 大食細胞(macrophage)나 中性球(neutrophil)등에 의해 생성되어 외부에서 침입한 微生物이나 내부에서 발생한 腫瘍細胞의 사멸에 영향을 주는 免疫防禦分子(immune defence molecule)로서 인식되고 있다.<sup>34)</sup>

단삼(*Salvia miltiorrhiza* BGE.)은 꿀풀과(脣形科, Labiatae)에 속한 多年生草本인 丹蔘 및 同屬 近緣植物의 根으로, 性味가 苦微寒無毒하여 血熱

과 瘀血의 모든 病症에 活血祛瘀, 養血安神의 效果가 있으며,<sup>7-11)</sup> 藥理作用으로는 血流量을 增加시켜 微細循環을 改善하고, 肝纖維組織의 增殖을 抑制하여 補肝作用을 하며, 赤血球와 血色素를 增加시켜주고, 抗癌 및 免疫增強作用등이 있는 것으로 報告되고 있는 藥物이다.<sup>37-41)</sup>

단삼은 단독처리에 의해서는 NO를 발생시키지 않았다. 이러한 결과는 단삼이 생쥐 복강대식세포에서 rIFN- $\gamma$ 에 의하여 이미 유도된 유도성 산화질소 합성효소의 상승적 유도를 위한 제 2차 신호로써 작용하고 있는 것을 의미한다. 특히 단삼 100 $\mu$ g/ml의 농도에서 rIFN- $\gamma$ 를 처리한 복강대식세포를 가장 잘 활성화시키기 때문에 생체내 실험 등을 통한 연구를 계속하는 일은 매우 흥미로운 것이다. 丹蔘은 이러한 조건에서 TNF- $\alpha$  분비량도 증진시켰기 때문에, 이러한 研究結果는 丹蔘이 腹腔大食細胞에서 TNF- $\alpha$ 를 매개로 NO 발생을 증가시키는 것을 의미한다.

대부분 대식세포의 활성화는 2단계 과정을 거친다.<sup>42,43)</sup> 본 연구에서는 rIFN- $\gamma$ 에 의해 감작된 생쥐 복강대식세포로부터 NO 발생을 증가시키는 단삼의 효과는 PKC 활성화 경로를 경유하여 TNF- $\alpha$ 를 분비시킨 결과인 것을 증명하였다. PKC 억제제인 STSN이 rIFN- $\gamma$ 와 단삼에 의한 NO 발생의 상승적 효과는 물론 TNF- $\alpha$ 의 분비도 현저히 억제했기 때문이다.

현재의 결과만으로 丹蔘에 의한 NO 발생의 정확한 기작 및 생리적 중요성은 정확하게 알 수 없으나 NO는 항박테리아 및 항암활성, 혈관확장, neural communication, 세포성장조절, 숙주보호 등 다양한 기능을 갖는 세포간 및 세포내의 중요한 조절분자이기 때문에 생체내의 기본적인 작용과정의 국소적 조절에 관여할 것으로 사료된다. 장차 인체세포 등을 이용한 계속적인 연구로 다양한 임상활용을 위한 정확한 효능기작이 밝혀지기를 기대한다.

## V. 結 論

丹蔘에 의한 생쥐의 복강대식세포로부터 NO 생성효과를 실험한 결과는 다음과 같다.

1. 丹蔘은 rIFN- $\gamma$ 와 함께 생쥐의 복강대식세포로부터 농도 및 시간의존적으로 NO를 생성시켰다.

2. 丹蔘에 의한 NO의 생성은 L-arginine 의존적 경로로 유도되었다.

3. 丹蔘은 TNF- $\alpha$ 의 생성도 유도하였으며, 이때 세포내 중요한 효소로 잘 알려진 PKC가 관여하였다.

4. 丹蔘에 의한 생쥐의 복강대식세포로부터 NO의 발생은 TNF- $\alpha$ 분비 의존적이었다.

以上的 結果에서 丹蔘은 생쥐의 복강대식세포로부터 NO생성을 유도하여 항박테리아 혹은 항암활성등의 효과를 나타낼 것으로 예상된다.

## 參 考 文 獻

- 1) 申天浩 : 癌瘤防治研究, 서울, 成輔社, 1984:25~29.
- 2) 福島清吾 : 抗癌中藥의 臨床應用, 東京, 醫治藥出版株式會社, 1988; 135~136.
- 3) 王水 : 皇帝內經 素問, 高文社, 1977:91, 166, 229, 326.
- 4) 金完熙, 崔達永 編 : 臟腑辨證論治, 成輔社, 1985:53.
- 5) Ahn MS, Kim SG, Eun JS, et. al. : Studies on the combined effect of several combined preparation of crude drugs and mitomycin C. Kor. J. Pharmacogn., 23(3) 1992 : 158~170.
- 6) Oldham RK : Biological Response Modifiers. J. Natl. Cancer Inst., 789, 1983. 9. Masaki Aburada : Protective effects of Juzen - Tai-Ho-Toh against adverse reactions associated with mitomycin C. Recent Advances in the Pharmacology of Kampo Medicin. 1988:375.
- 7) 申佶求 : 申氏本草學, 서울, 壽文社, 1982:519~521.
- 8) 辛民教 : 臨床本草學, 서울, 永林出版社, 1988 ; 372~374.
- 9) 李商仁 : 本草學, 서울, 修書院, 1981:428~429.
- 10) 李時珍 : 本草綱目(上), 北京, 人民衛生出版社, 1982:758~760.
- 11) 神農氏 : 神農本草經, 臺北, 集文書局, 1979;卷1:29~30.
- 12) Bredt, D. S. and Synder, S. H.: Nitric oxide, a novel neuronal messenger. Neuron 8, 1992:3.
- 13) Moncada, S., Palmer, R. M. J. and Higgs, E. A. : Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology. Pharmacol. Rev. 43, 1991:109.
- 14) Nathan, C. F. and Hibbs, J. B. Jr.: Role of nitric oxide synthesis in macrophage antimicrobial activity. Curr. Opin Immunol. 3, 1991:65.
- 15) Nathan, C. F.: Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. FASEB J. 6, 1992:3051.
- 16) Stuehr, D. J. and Marletta M. A.: Mammalian nitrate biosynthesis: Mouse macrophages produce nitrite and nitrate in response to Escherichia coli lipopolysaccharide. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82, 1985:7738.
- 17) Wagner, D. A., Young V. R. and Tan -



- nenbaum, S. R.: Mammalian nitrate biosynthesis: Incorporation of  $^{15}\text{NH}_3$  into nitrate is enhanced by endotoxin treatment. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78, 1983;7764.
- 18) Stuehr, D. J., Gross, S. S., Sakuma, I., et al. : Activated murine macrophages secrete a metabolite of arginine with the bioactivity of endothelium-derived relaxing factor and the chemical reactivity of nitric oxide. J. Exp. Med. 169, 1989;1011.
- 19) Hibbs, J. B., Jr., Taintor, R. R. and Vavrin, Z.: Iron depletion: possible cause of tumor cell cytotoxicity induced by activated macrophages. Biochem. Biophys. Res. Commun. 123, 1984;716.
- 20) Hibbs, J. B., Jr., Taintor, R. R. and Vavrin, Z.: Macrophage cytotoxicity: role for L-arginine deiminase and imino nitrogen oxidation to nitrite. Science 235, 1987;473.
- 21) Stuehr, D. J., and Nathan, C. F.: Nitric oxide. A macrophage product responsible for cytostasis and respiratory inhibition in tumor target cells. J. Exp. Med. 169, 1989;1543.
- 22) Green, L. C., Wagner, D. A., Glogowski, J. et al. : Analysis of nitrate, nitrite, and  $^{15}\text{N}$ nitrate in biologic fluids. Anal. Biochem. 126, 1982;131.
- 23) Scuderi, P., Sterling, K. E., Lam, K. S., et al.: Raised serum levels of tumor necrosis factor in parasitic infections. Lancet 2, 1986;1364.
- 24) 김진복 : 암면역학과 면역요법, 대한면역학회지, 1986;8(1):73~76.
- 25) 김동집 : 면역요법의 최근동향, 대한의학협회지, 1980;23(9):762.
- 26) 安圭錫 外 : 東醫病理學, 서울, 高文社, 1990; 110~112, 118~122, 165~169.
- 27) 徐復霜 外 : 脾胃理論與臨床, 湖南科技出版社, 1990;5~8,40~42,327~330.
- 28) 王冰 : 皇帝內經 靈樞, 서울, 高文社, 1973;469.
- 29) 李淵臺 : 최신면역학, 集文堂, 1982 ; 5~8,33,204,215,382~384.
- 30) 이종훈 : 병원미생물학, 壽文社, 1992 ; 171~235.
- 31) 서울대학교의과대학 : 종양학, 서울대학교출판부, 1989;93~95.
- 32) Nathan C : Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. J FASEB. 1992;6:3051~3064.
- 33) Hickman JA : Apoptosis induced by anticancer drugs. Cancer Metastasis Rev, 1992;11:121~139.
- 34) Snyder S. H., and D. S. Bredt. Biological roles of nitric oxide, Scientific American Review, 1992;28~35.
- 35) Nathan, C., Xie, Q-W. Regulation of the biosynthesis of nitric oxide. J. Biol. Chem. 269, 1994;13725~13728.
- 36) Marletta, M.A. Nitric oxide synthase structure and mechanism, J.Biol. Chem. 268, 1993;12231~12234.
- 37) 왕곡생 : 중약약리와 응용, 북경, 인민위생출판사, 1983;223~227.
- 38) 이의규 외 : 중약약리학, 북경, 중국중의약출판사, 1992;135~137.
- 39) 낙화생 저, 안덕균 역 : 면역과 한방, 서울, 열린책들, 1992;80~85.
- 40) 서울대학교 의과대학 : 면역학, 서울, 서울대학교 출판부, 1994;167, 229,234~241.
- 41) 林泰榮 : 丹蔘이 貧血家兔의 活血作에 미치는 影響, 圓光大碩士學位論文, 1984.
- 42) Russell, S. W., Doe, W. F., Mcintosh, A. T.

- : Functional characterization of a stable, noncytolytic stage of macrophage activation in tumors. *J. Exp. Med.* 146, 1977:1511.
- 43) Kim, H. M., Moon, Y. H.: Human chorionic gonadotropin induces nitric oxide synthase mRNA in mouse peritoneal macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 229, 1996 :548.