大韓方劑學會誌 : 제8권 1호
KOMP Vol. 8. No. 1. 2000.

淫羊藿 水抽出物이 생쥐의 抗體生成에 미치는 影響

金正勳 · 朴貞淑* · 李寬順** · 林圭庠 · 李光揆*** · 禹元洪

원광대학교 한의학전문대학원

*원광대학교 대학원 약학과

**원광대학교 대학원 한의학과

***우석대학교 한의과대학 병리학교실

Effects of the Aqueous Extract of Epimedii Herba on the Production of Antibodies in Mice

Joung-Hoon Kim · Joung-Suk Park* · Kwan-Sun Lee** · Kyu-Sang Lim · Kwang-Gyu Lee*** · Won-Hong Woo

Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University

*Dept. of Pharmacy, Graduate School of Wonkwang University

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

***Dept. of Pathology, College of Oriental Medicine, Wooseok University

ABSTRACT

Epimedii Herba is an important traditional herb medicine widely used as a tonic. However, the mechanism of action of this drug on the immune system is not well studied. This study was performed to elucidate the effects of the aqueous extract of Epimedii Herba on the production of antibodies in mice. Antibodies in serum were detected in male ICR mice treated with the aqueous extract of Epimedii Herba (AEEH) at a dosage of 40, 120, and 360 mg/kg orally for 2 weeks. Effects of oral administration of AEEH on antibody forming responses were measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) of immunoglobulin (Ig) levels in serum.

The results were as follows;

1. Epimedii Herba slightly decreased body weight gain.
2. Epimedii Herba significantly increased the relative spleen weight.
3. Epimedii Herba significantly increased total serum IgG levels.
4. Epimedii Herba significantly enhanced total serum IgG1 levels.
5. Epimedii Herba significantly increased total serum IgG2a levels.
6. Epimedii Herba markedly increased total serum IgM levels.

These findings demonstrate that Epimedii Herba significantly enhances the production of antibodies at therapeutic concentrations, and suggest that administration of Epimedii Herba may prevent the host from immunologic diseases.

Key words: Epimedii Herba, Antibodies, Mice

Ⅰ. 緖　　論

韓醫學에서 免疫과 聯關된 內容으로는 素問 評熱病論에 "邪氣가 人體에 侵入할 때에 그 사람의 正氣가 반드시 먼저 虛하게 된다"라고 하여 正氣가 旺盛하면 邪氣가 侵入하지 못하고 正氣가 虛弱하면 邪氣가 侵入하여 疾病이 發生될 수 있음을 說明하였고[1], 素問 通熱虛實論에는 "邪氣가 旺盛하면 實証이고, 精氣를 빼앗기면 虛証이다"라고 하여 虛証와 實証을 正氣와 邪氣間의 交爭의 狀態로 파악하고 扶正과 祛邪法을 應用하였으며, 扶正은 益衛氣, 補元氣, 養血氣, 益肺, 健脾, 補腎을 包括하면서 人體의 免疫을 促進시킨다고 하였다[2, 3].

最近 生活水準의 向上으로 健康에 대한 관심이 고조되면서 免疫力을 增强시킬 수 있는 藥材는 疾病의 治療 및 豫防 次元에서 그 價値가 날로 增加되어지고 있는데, 그 중 補陽藥類에 속하는 淫羊藿은 補腎壯陽의 效能이 있어 免疫活性에 影響을 미칠 것으로 豫測된다.

淫羊藿은 매자나무과(Berberidaceae)에 속하는 多年生 草本인 三枝九葉草(Epimedium koreanum N.) 및 同屬 近緣植物의 全草를 말하는 것으로 補腎壯陽, 祛風除濕 等의 效能이 있어, 陰痿, 不姙, 류마티스, 健忘症, 神經衰弱 等에 應用되는 强壯 및 强精藥으로서 補陽藥類에 속하는 藥材이다[4-7].

淫羊藿의 藥理學的 硏究로 淫羊藿 抽出物은 高血壓을 誘導시킨 正常 생쥐와 토끼 및 腎臟疾患이 있는 高血壓 흰쥐에 있어서 末梢血管을 擴張시켜 血壓을 낮추어 주고, 用量과 관련하여 相反된 利尿作用을 가지며 그밖에도 鎭咳, 去痰, 喘息, 心臟疾患에도 効果가 있다고 하였으며[8-10], Xie 等[11]은 淫羊藿이 hydrocortisone에 의해 骨多孔症이 誘導된 흰쥐에서 骨髓形成을 促進시킨다고 하였고, Wu 等[12]은 淫羊藿이 副腎皮質호르몬에 의한 副作用을 抑制시킨다고 報告하였으나 淫羊藿에 대한 여러 가지 用量과 免疫抗體들과의 相關性에 대해서는 상세히 硏究된 바 없다.

이에 著者들은 補腎壯陽의 效能을 가지는 淫羊藿이 免疫抗體에 미치는 影響을 알아보고자 다양한 淫羊藿 水抽出物을 經口投與한 후 생쥐의 體重과 脾臟의 무게에 대한 變化를 觀察하였으며, 또한 淫羊藿이 血淸 中의 免疫抗體 즉, IgG, IgG1, IgG2a 및 IgM의 生成에 미치는 影響을 測定하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

Ⅱ. 實驗材料 및 方法

1. 實驗動物

生後 5週齡, 體重 18g의 ICR 雄性의 생쥐를 다물 사이언스(대전광역시 유성구 所在)에서 分讓받아 市販飼料(第一飼料 Co.: 조단백질 22.5%以上, 조지방 35%以上, 조섬유 7.0%以上, 조회분 10.0%以下, 칼슘 0.7%以上)로 1週間 給食시켜 適應시킨 다음 實驗에 使用하였다. 實驗期間 중 飼料와 飮水는 자유로이 給食시켰으며, 溫度 23 ± 2℃, 濕度 50-60%의 環境에서 飼育하였다.

2. 試料의 調製 및 投與

本 實驗에서 사용한 藥材는 韓藥規定集에 依據하여 市中에서 購入한 後 精選하여 使用하였다. 淫羊藿(*Epimedium koreanum* Nakai)의 水抽出物은 Ono 等[13]의 方法에 준하여 實施하였다. 즉, 淫羊藿의 乾燥한 葉 400g을 細切하여 蒸溜水 6.5ℓ에 넣어 3시간 끓여서 濾過하고 3,200rpm로 30分間 遠心分離 後 減壓 下에서 濃縮하여 42.8g(收得率 10.7%)의 시료를 얻었다.

試料投與는 試料를 40, 120 및 360mg/kg이 되도록 蒸溜水 10ml/kg에 녹인 다음 1日

1回 同一한 時間에 2週間 각각의 實驗動物에 經口投與하였고, 對照群은 同一方法으로 蒸溜水만을 經口投與하였다.

3. 體重 및 脾臟의 重量計測

1) 體重 測定; 實驗動物의 體重은 試料投與 開始日과 最終日 약 24時間 前에 絶食시킨 後, 同一한 時間에 測定하였다.

2) 脾臟의 重量; 最終 試料投與 24시간 後에 實驗動物의 心臟으로부터 血液을 採血한 後 脾臟을 摘出하여, 重量을 측정하여 體重에 대한 百分率을 구하였다.

4. 血淸의 分離

생쥐를 ether로 痲醉시킨 後, 腹腔 및 胸腔을 切開하여 心臟으로부터 血液을 採血하고 常溫에서 1시간 방치하여 5,000rpm으로 10分間 遠心分離하였으며, 이어서 12,000rpm으로 2分間 재차 遠心分離하여 上層의 血淸을 취하였다. 각각의 혈청은 分析 時까지 -70℃에 冷凍保管 後 實驗에 使用하였다.

5. 血淸 IgG抗體價의 測定

생쥐에서 分離한 血淸을 利用하여 血淸內의 IgG 抗體價를 酵素免疫檢査法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)으로 測定하였다[14]. 즉, 10㎍/ml濃度로 phosphate-buffered saline(PBS; pH 7.2)에 희석한 mouse monoclonal anti-IgG antibody(Caltag, Burlingame, CA, U.S.A.)를 밑이 둥근 96 well microplate(Costar Co., Cambridge, MA, U.S.A.)에 100㎕/well씩 加하고 4℃에서 24시간 反應시켜 plate에 吸着이 되도록 한 다음 0.05%(v/v) Tween 20이 포함된 PBS(PBST, pH 7.4)로 洗滌하여 吸着되지 않은 抗原을 제거하였다. 1% bovine serum albumin이 함유된 PBS(1% BSA-PBS)로 室溫에서 2시간 blocking하여 PBST로 3회 洗滌한 다음 1% BSA-PBS로 희석한 血淸 試料液과 IgG標準溶液(Pierce, Rockford, IL, U.S.A.)을 각 well당 100㎕씩 넣어 室溫에서 2시간 反應시킨 後 PBST로 3회 洗滌하였다. 다음에는 horseradish peroxidase가 결합된 goat anti-mouse IgG(Caltag)를 100㎕/well씩 가하고 다시 室溫에서 1시간 反應시켰으며, 이 plate를 PBST로 洗滌한 後 citrate-phosphate 緩衝溶液(pH 5.0)에 희석한 *o*-phenylenediamine-H_2O_2基質 溶液을 가하여 室溫, 遮光 下에서 酵素에 의한 發色反應을 유도하였다. 약 10分後 50㎕의 2N H_2SO_4溶液으로 反應을 정지시키고, 波長 490nm에서 ELISA reader (Spectra Max 340; Molecular Devices, Sunnyvale, CA, U.S.A.)로 흡광도(optical density)를 測定 比較하였다. 모든 檢體는 triplicate로 하여 평균값을 구하였으며 血淸을 가하지 않은 well의 평균값과의 差異를 結果分析에 利用하였다.

6. 血淸 IgG1抗體價의 測定

생쥐에서 分離한 血淸을 利用하여 血淸內의 IgG1抗體價를 ELISA로 測定하였다[14]. 즉, 10㎍/ml濃度로 PBS (pH 7.2)에 희석한 mouse monoclonal anti-IgG1 antibody (PharMingen)를 밑이 둥근 96 well microplate에 100㎕/well씩 加하고 4℃에서 24시간 反應시켜 plate에 吸着이 되도록 한 다음 PBST (pH 7.4)로 洗滌하여 吸着되지 않은 抗原을 제거하였다. 1% BSA-PBS로 well당 150㎕씩 넣어 室溫에서 2시간 blocking하고 PBST로 3회 洗滌한 다음 1% BSA-PBS로 희석한 血淸 試料液과 IgG1標準溶液(PharMingen)을 각 well당 100㎕씩 넣어 室溫에서 2시간 反應시킨 後 PBST로 3회 洗滌하였다. 다음에는 horseradish peroxidase가 결합된 goat anti-mouse IgG1(PharMingen)

를 100㎕/well씩 가하고 다시 室溫에서 1시간 反應시켰으며, 이 plate를 PBST로 洗滌한 後 citrate-phosphate 緩衝溶液(pH 5.0)에 희석한 *o*-phenylenediamine-H_2O_2基質 溶液을 가하여 室溫, 遮光 下에서 酵素에 의한 發色反應을 유도하였다. 약 10分 後 50㎕의 2N H_2SO_4溶液으로 反應을 정지시키고, 波長 490nm에서 ELISA reader로 흡광도를 測定比較하였다. 모든 檢體는 triplicate로 하여 평균값을 구하였으며 血淸을 가하지 않은 well의 평균값과의 差異를 結果分析에 利用하였다.

7. 血淸 IgG2a抗體價의 測定

생쥐에서 分離한 血淸을 利用하여 血淸內의 IgG2a抗體價를 ELISA로 測定하였다[14]. 즉, 10㎍/ml濃度로 PBS (pH 7.2)에 희석한 mouse monoclonal anti-IgG2a antibody(PharMingen)를 밑이 둥근 96 well microplate에 100㎕/well씩 가하고 4℃에서 24시간 反應시켜 plate에 吸着이 되도록 한 다음 PBST(pH 7.4)로 洗滌하여 吸着되지 않은 抗原을 제거하였다. 1% BSA-PBS로 室溫에서 2시간 blocking하여 PBST로 3회 洗滌한 다음 1% BSA-PBS로 희석한 血淸 試料液과 IgG2a標準溶液(PharMingen)을 각 well당 100㎕씩 넣어 室溫에서 2시간 反應시킨 後 PBST로 3회 洗滌하였다. 다음에는 horseradish peroxidase가 결합된 goat anti-mouse IgG2a (PharMingen)를 100㎕/well씩 가하고 다시 室溫에서 1시간 反應시켰으며, 이 plate를 PBST로 洗滌한 後 citrate-phosphate 緩衝溶液(pH 5.0)에 희석한 *o*-phenylenediamine-H_2O_2基質 溶液을 가하여 室溫, 遮光 下에서 酵素에 의한 發色反應을 유도하였다. 약 10分 後 50㎕의 2N H_2SO_4溶液으로 反應을 정지시키고, 波長 490nm에서 ELISA reader로 흡광도를 測定比較하였다. 모든 檢體는 triplicate로 하여 평균값을 구하였으며 血淸을 가하지 않은 well의 평균값과의 差異를 結果分析에 利用하였다.

8. 血淸 IgM抗體價의 測定

생쥐에서 分離한 血淸을 利用하여 血淸內의 IgM抗體價를 ELISA로 測定하였다[14]. 즉, 10㎍/ml濃度로 PBS(pH 7.2)에 희석한 mouse monoclonal anti-IgM antibody(PharMingen)를 밑이 둥근 96 well microplate에 100㎕/well씩 加하고 4℃에서 24시간 反應시켜 plate에 吸着이 되도록 한 다음PBST(pH 7.4)로 洗滌하여 吸着되지 않은 抗原을 제거하였다. 1% BSA-PBS로 室溫에서 2시간 blocking하고 PBST로 3회 洗滌한 다음 1% BSA-PBS로 희석한 血淸 試料液과 IgM標準溶液(PharMingen)을 각 well당 100㎕씩 넣어 室溫에서 2시간 反應시킨 後 PBST로 3회 洗滌하였다. 다음에는 horseradish peroxidase가 결합된 goat anti-mouse IgM(Caltag)를 100㎕/well씩 가하고 다시 室溫에서 1시간 反應시켰으며, 이 plate를 PBST로 洗滌한 後 citrate-phosphate 緩衝溶液(pH 5.0)에 희석한 *o*-phenylenediamine- H_2O_2基質 溶液을 가하고 室溫, 遮光 下에서 酵素에 의한 發色反應을 유도하였다. 약 10分 後 50㎕의 2N H_2SO_4溶液으로 反應을 정지시키고, 波長 490nm에서 ELISA reader(Spectra Max 340)로 흡광도(optical density)를 測定 比較하였다. 모든 檢體는 triplicate로 하여 평균값을 구하였으며 血淸을 가하지 않은 well의 평균값과의 差異를 結果分析에 利用하였다.

9. 統計學的 分析

모든 자료는 mean ± standard error (S.E.)로 나타냈으며, 有意性 檢査는 Students *t*-test로 행하였다.

Ⅲ. 實 驗 成 績

1. 體重의 變化

體重의 增加率은 Table 1에서 보는 바와 같다. 淫羊藿 水抽出物 40mg/kg 投與群, 120mg/kg 投與群 및 360 mg/kg 投與群은 對照群의 11.19 ± 1.80%에 비해 각각 8.18 ± 0.72%, 8.77 ± 1.00%, 7.83 ± 0.92%로 약간 減少하는 傾向을 보였으나 有意性은 認定되지 않았다.

Table 1. Changes in Body Weight of Mice by Doses of the Aqueous Extract of Epimedii Herba

Body weight	Concentration of AEEH (mg/kg/day)			
	0	40	120	360
(Body wt. gain %)	11.19 ± 1.80	8.18 ± 0.72	8.77 ± 1.00	7.83 ± 0.92

The aqueous extract of Epimedii Herba (AEEH) at a dosage of 40, 120 and 360 mg/kg was orally administered to ICR mice once a day for 2 weeks. Control mice were given the corresponding volume of distilled water. All values represent the mean ±standard error or 5 to 6 mice. There is no significant difference between control and AEEH groups in this table.

2. 脾臟의 重量比 變化

免疫臟器인 脾臟의 對 體重比 變化는 Table 2에서 보는 바와 같이, 對照群은 0.26 ± 0.01%, 淫羊藿 水抽出物 40mg/kg 投與群은 0.31 ± 0.01%, 120mg/kg 投與群은 0.26 ± 0.03%, 360mg/kg 投與群은 0.26 ± 0.02% 增加하여 淫羊藿 水抽出物 40mg/kg 投與群에서 對照群에 비하여 有意性 있는 增加現狀을 보였다.

Table 2. Changes in the Relative Spleen Weight of Mice by Doses of the Aqueous Extract of Epimedii Herba

Spleen weight	Concentration of AEEH (mg/kg/day)			
	0	40	120	360
(Spleen wt./body wt.×100)	0.26 ± 0.01	0.31 ± 0.01**	0.26 ± 0.03	0.26 ± 0.02

The aqueous extract of Epimedii Herba (AEEH) at a dosage of 40, 120 and 360 mg/kg was orally administered to ICR mice once a day for 2 weeks. Control mice were given the corresponding volume of distilled water. All values represent the mean ± standard error or 5 to 6 mice. Asterisks in the table denote statistically significant changes (**P<0.01) compared to the values in the control mice not given oral AEEH.

3. 血淸 IgG抗體價에 미치는 影響

. 淫羊藿 水抽出物이 血淸 IgG抗體價에 미치는 影響을 알아본 結果 正常 對照群은 116 ± 23㎍/㎖이었으며, 淫羊藿 水抽出物 40mg/kg 投與群은 302 ± 55㎍/㎖로 有意性 있는 增加를 나타냈으며, 淫羊藿 水抽出物 120mg/kg 投與群과 360 mg/kg 投與群은 각각 224 ± 51㎍/㎖, 118 ± 20㎍/㎖로 對照群에 비하여 增加하는 것으로 나타났다. 특히 淫羊藿 水抽出物의 血淸 IgG抗體價에 대한 效果는 淫羊藿 水抽出物의 投與量이 적을수록 比例하여 增加하는 傾向을 나타냈다(Fig. 1).

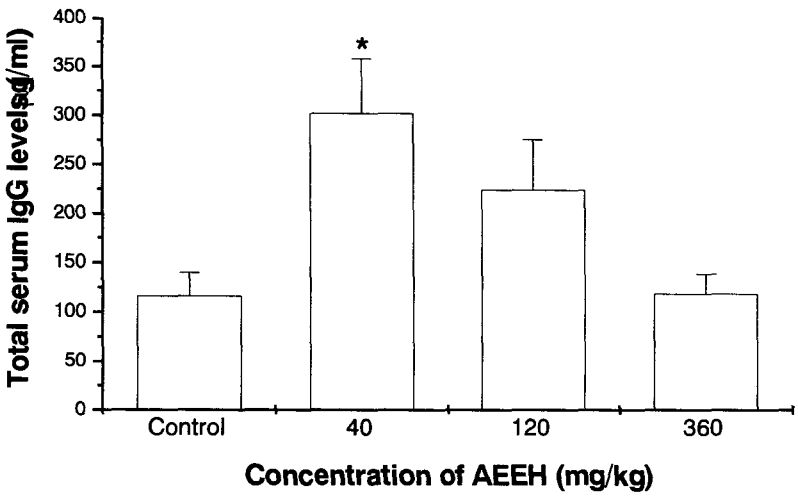

Fig. 1. Effect of the aqueous extract of Epimedii Herba on total serum IgG level in ICR mice

The aqueous extract of Epimedii Herba (AEEH) at a dosage of 40, 120, and 360 mg/kg was orally administered to ICR mice once a day for 2 weeks. Control mice were given the corresponding volume of distilled water. Total serum IgG level was measured by ELISA. Each column represents the mean

and standard error of 5 to 6 mice. Asterisks indicate a significant difference compared with control group ($^{*}P<0.05$).

4. 血淸 IgG1抗體價에 미치는 影響

淫羊藿 水抽出物이 血淸 IgG1抗體價에 미치는 影響을 알아본 結果 對照群이 43 ± 2.3 μg/mℓ인데 비해 淫羊藿 水抽出物 40mg/kg 投與群은 65 ± 8.7μg/mℓ로 有意性 있는 增加를 나타냈으며, 淫羊藿 水抽出物 120mg/kg 投與群과 360 mg/kg 投與群은 각각 47 ± 6.5μg/mℓ, 43 ± 3.8μg/mℓ로 對照群에 비하여 增加하는 것으로 나타났다. 특히 淫羊藿 水抽出物의 血淸 IgG1抗體價에 대한 效果는 淫羊藿 水抽出物의 投與量이 적을수록 比例하여 增加하는 傾向을 나타냈다(Fig. 2).

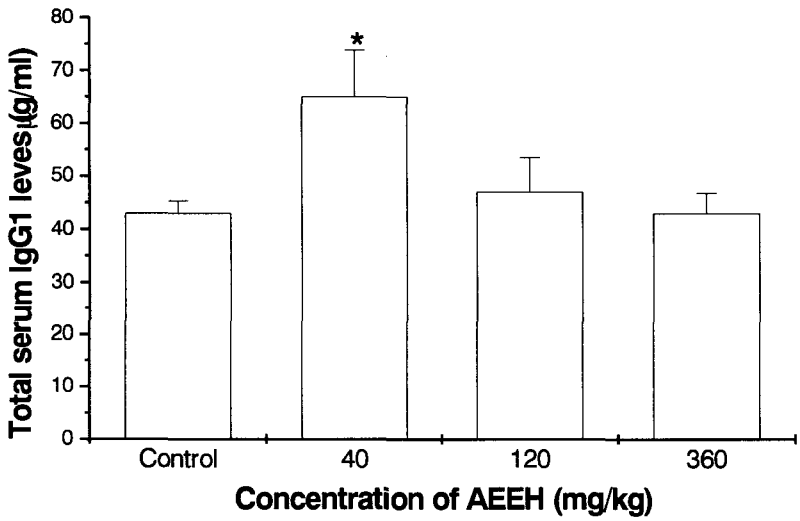

Fig. 2. Effect of the aqueous extract of Epimedii Herba on total serum IgG1 level in ICR mice

The aqueous extract of Epimedii Herba (AEEH) at a dosage of 40, 120, and 360 mg/kg was orally administered to ICR mice once a day for 2 weeks. Control mice were given the corresponding volume of distilled water. Total serum IgG1 level was measured by ELISA. Each column represents the mean and standard error of 5 to 6 mice. Asterisks indicate a significant difference compared with control group ($^{*}P<0.05$).

5. 血淸 IgG2a抗體價에 미치는 影響

血淸 IgG2a抗體價는 Figs. 3에서 보는 바와 같이, 淫羊藿 水抽出物이 血淸 IgG2a抗體價에 미치는 影響을 알아본 結果 對照群이 67 ± 3.6㎍/㎖인데 비해 淫羊藿 水抽出物 40mg/kg 投與群, 120mg/kg 投與群 및 360 mg/kg 投與群은 각각 90 ± 6.2㎍/㎖, 79 ± 3.0㎍/㎖, 81 ± 3.6㎍/㎖로 有意한 增加 보였다.

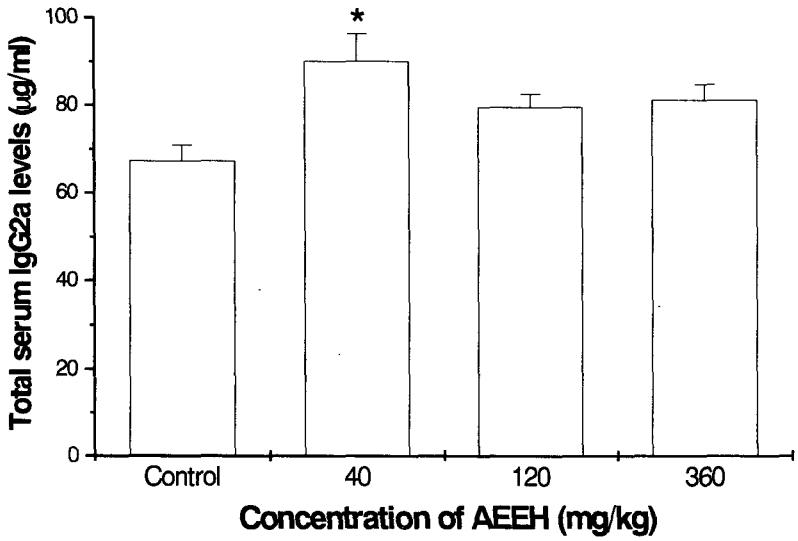

Fig. 3. Effect of the aqueous extract of Epimedii Herba on total serum IgG2a level in ICR mice.

The aqueous extract of Epimedii Herba (AEEH) at a dosage of 40, 120, and 360 mg/kg was orally administered to ICR mice once a day for 2 weeks. Control mice were given the corresponding volume of distilled water. Total serum IgG2a level was measured by ELISA. Each column represents the mean and standard error of 5 to 6 mice. Asterisks indicate a significant difference compared with control group ($^{*}P<0.05$).

6. 血淸 IgM抗體價에 미치는 影響

淫羊藿 水抽出物이 血淸 IgM抗體價에 미치는 影響을 알아본 結果 對照群은 132 ±16.1 ㎍/㎖이었으며, 淫羊藿 水抽出物 40mg/kg 投與群과 120mg/kg 投與群은 각각 218 ± 11.4㎍/

㎖, 234 ± 9.5㎍/㎖로 顯著한 增加를 보였으며, 淫羊藿 水抽出物 360mg/kg 投與群은 136 ± 3.6㎍/㎖로 對照群에 비하여 增加하는 것으로 나타났다(Fig. 4).

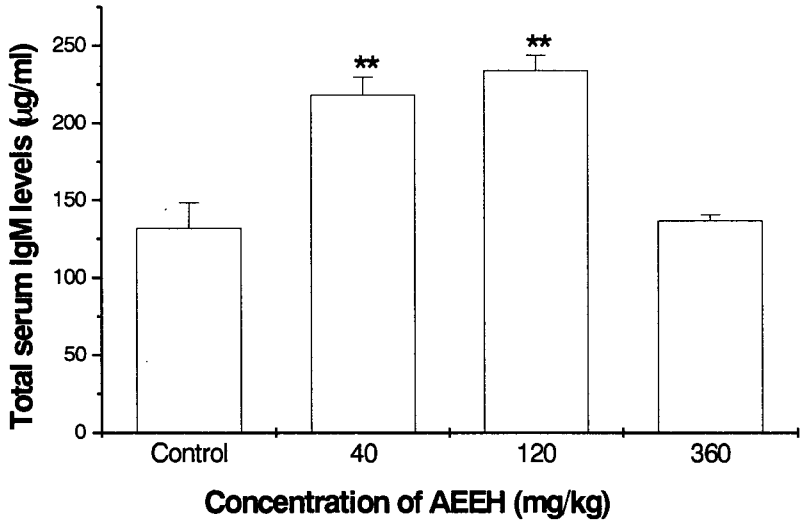

Fig. 4. Effect of the aqueous extract of Epimedii Herba on total serum IgM level in ICR mice.

The aqueous extract of Epimedii Herba (AEEH) at a dosage of 40, 120, and 360 mg/kg was orally administered to ICR mice once a day for 2 weeks. Control mice were given the corresponding volume of distilled water. Total serum IgM level was measured by ELISA. Each column represents the mean and standard error of 5 to 6 mice. Asterisks indicate a significant difference compared with control group ($^{**}P<0.01$).

Ⅳ. 考　　察

韓醫學에서 人體는 정상적인 生理狀況 下에서 體內의 陰陽, 氣血, 臟腑, 經絡이 모두 相互依存, 相互制約의 關係에서 平衡狀態에 있는 것이며, 이러한 相對的인 平衡狀態가 破壞될 때 즉 陰陽의 均衡이 깨졌을 경우 疾病이 發生하고, 그 發病과 變化는 疾病을 發生하게 하는 外部의 邪氣와 疾病을 防禦하는 內部의 正氣와의 消長進退로 歸納시킬 수 있다고 하였다[15-17].

正氣란 臟腑·經絡·氣血·營衛의 正常生理機能을 包括한 人體가 邪氣의 侵犯에 抵抗하고 生活環境에 抵抗하는 能力으로 元氣, 眞氣라고도 하며, 邪氣는 六淫外에 人體內의 陰陽失調로 惹起된 病理變化와 飮食, 勞倦, 痰飮 等 一切의 發病 要因을 가리키는 것이다[16,17]. 林[18]에 의하면 正氣는 邪氣를 除去하고 陰陽을 調節하여 人體를 保護하는 作用을 하므로 生體의 免疫調節機能이 있음을 알 수 있다 하였으며, 章[19]은 正氣가 虛弱한 患者에게서 免疫機能이 低下되어 있다는 것을 報告하였고, 趙[20]는 韓醫學的인 正氣는 非特異的인 防禦機能 및 이와 관련되는 諸防禦物質을 總稱한다고 하여 正氣를 免疫의 槪念으로 說明하였다.

最近에 와서 生體防禦機能에 관한 關心이 增加되면서 정체관을 가지고 있는 韓醫學의 理論에 根據한 韓藥材에 대한 免疫學的인 硏究가 활발히 進行되어지고 있다[21-26].

淫羊藿은 매자나무과(Berberidaceae)에 속하는 多年生 草本으로서, 우리나라에서는 三枝九葉草(*Epimedium koreanum* N.)의 地上部를 淫羊藿으로 使用하고 있으며, 中國에서는 *E. glandiflorum, E. sagittatum* 및 *E. brevicornum*의 莖과 葉을 淫羊藿으로 使用하고 있는데 이들의 根莖은 淫羊藿根으로 韓方에서는 强壯 및 强精藥으로서 陰痿, 不姙, 류마티스, 健忘症, 神經衰弱 및 體質改善 等의 目的으로 利用되어지며, 補腎長養과 擧風除濕의 效能을 가지는 補陽藥類에 속한다[4-7].

淫羊藿의 藥理 成分으로는 flavonoid, alkaloid, lignan, terpenic compound 등이 報告되고 있으며[27-33], 특히 *Epimedium koreanum, E. glandiflorum* 및 *E. sagittatum*으로부터 flavonoid인 icariin, epimedoside A, epimedin A, B, C 및 quercetin 等이 알려져 있다[34-36].

藥理學的 硏究로 Inokuchi 等[37,38]은 淫羊藿의 抽出成分인 tannin類가 angiotensin converting enzyme에 대해 抑制效果를 나타낸다고 하였으며, Chung 等[39]은 淫羊藿이 慢性 腎臟炎을 誘發시킨 흰쥐에서 blood urea nitrogen(BUN)과 혈청creatinine値를 有意하게 減少시킨다고 하였다. Ono 等[13]은 淫羊藿의 각종 抽出物들이 reverse transcriptase와 ribonucleic acid(RNA)-dependent deoxynucleic acid(DNA) polymerase活性에 대해 抑制作用을 나타낸다고 하였으며 Liu 等[40]은 淫羊藿의 polysaccharide가 骨髓에서 細胞增殖을 增加시키고 또한 DNA合成을 促進시킨다고 하였으며, Park 等[41]은 淫羊藿의 메탄올抽出物이 低用量에서는 非正常 狀態로 誘導培養된 병아리 腦細胞에서 pyruvate dehydrogenase complex의 活性을 增加시킨다고 하였으나 高用量에서는 그 活性을 減少시킨다고 하였다. 또한 淫羊藿의 抽出物은 高血壓을 誘導시킨 正常 생쥐와 토끼 및 腎臟疾患이 있는 高血壓 흰쥐에 있어서 末梢血管을 擴張시켜 血壓을 낮추어 주며, 用量과 관련해 相反된 利尿作用이 있고, 그밖에 鎭咳, 去痰, 喘息, 心臟疾患에도 效果가 있다고 報告되었다[8-10]. 그리고 Xie 等[11]은 淫羊藿이 hydrocortisone에 의해 骨多孔症이 誘導된 흰쥐에서 骨髓形成을 促進시킨다고 報告하였고, Wu 等[12]도 淫羊藿이 副腎皮質호르몬에 의한 副作用을 抑制시킨다고 하였다.

이상과 같이 淫羊藿에 대한 藥理學的 活性에 대한 影響의 硏究는 많이 進行되어 왔으나[9,10,37,38,42-47], 淫羊藿이 여러 가지 用

量과 免疫抗體들과의 相關性에 대해서는 상세히 硏究된 바 없다.

따라서 本 著者는 오랫동안에 强壯藥으로 利用되고 있는 淫羊藿 水抽出物의 用量別 免疫抗體에 影響을 미칠 것으로 期待되어, 實施한 本 實驗의 結果에 대하여 考察하면 다음과 같다.

淫羊藿 水抽出物이 생쥐의 免疫系에 미치는 影響을 알아보기 위하여 우선 投與量을 文獻을 中心으로 人體 및 생쥐의 體重比를 基礎로 하여 淫羊藿 水抽出物 40mg/kg 投與群, 120mg/kg 投與群 및 360 mg/kg 投與群과 對照群으로 區別하여 實驗하였다.

우선 정상생쥐에 淫羊藿 水抽出物 40mg/kg, 120mg/kg, 360 mg/kg을 2주 동안 投與했을 경우 體重의 變化와 外觀을 觀察한 結果 對照群과 比較하여 體重은 약간 減少하는 傾向을 나타내었지만 有意性은 나타나지 않았다(Table 1).

免疫臟器인 脾臟의 對 體重比는 對照群에 비해 淫羊藿 水抽出物 40mg/kg 投與群에서 有意한 增加를 보였다(Table 2). 이는 淫羊藿 메탄올 抽出物이 脾臟의 重量을 增加시켰다는 Kim 等[48]의 報告와 一致하였다. 以上에서 볼 때 常用量의 淫羊藿 水抽出物은 생쥐에 있어서 分明한 毒性을 惹起하지 않은 점 등으로 미루어 抗體生成의 增加가 期待된다.

B細胞에서 生成되는 抗體의 class와 subclass의 決定은 抗原刺戟에 의한 B淋巴節의 環境, 즉 T細胞에서 分泌되는 cytokine의 影響을 받는다. Cytokine은 免疫系 및 非免役系 細胞들에서 生成되는 水溶性 蛋白質로서 免役系 細胞들의 成長, 分解, 增殖 및 活性을 增加 또는 抑制하여 免疫反應 및 炎症反應을 調節하는 중요한 役割을 한다[49]. 또한 T helper(Th) 細胞는 각종 cytokine을 生成하는데, 生成된 cytokine의 種類에 따라 Th1과 Th2의 2가지 subset로 나뉜다. 이러한 cytokine 중 IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, interferon(IFN)-γ, transforming growth factor(TGF)-β가 대표적인 것으로 알려져 있다[49]. IFN-γ는 IL-2와 같이 Th1 淋巴球에서 生成되는 cytokine으로 大食細胞의 活性, 自然殺害(natural killer)細胞 및 抗原特異 細胞毒性 淋巴球(cytotoxic T lymphocyte)의 細胞毒性을 增加시킴으로써 免疫反應을 誘導하는 중요한 役割을 하며 또한 주로 IgG2a抗體 生成을 誘導한다[50,51]. IL-4는 Th2淋巴球에 의해 發現되는 cytokine으로서 다른 炎症性 cytokine의 發現을 抑制하는 抗炎症性 cytokine의 機能을 가지며 또한 IgG1과 IgE 抗體 生成을 誘導하는 것으로 알려져 있다[52,53]. 이를 토대로 하여 淫羊藿 水抽出物이 血淸中 IgG, IgG1, IgG2a 및 IgM抗體價에 미치는 影響을 ELISA법을 利用하여 觀察하였다. 血淸 IgG抗體價는 對照群에 비해 淫羊藿 水抽出物 40mg/kg 投與群에서 有意하게 增加를 하였고(Fig. 1), IgG1抗體價 역시 對照群에 비해 淫羊藿 水抽出物 40mg/kg 投與群에서 有意한 增加를 보였고 (Fig. 2), 血淸 IgG2a와 IgM抗體價에 있어서는 對照群에 비해 淫羊藿 水抽出物 40mg/kg 投與群과 120mg/kg 投與群에서 顯著한 增加를 보였다 (Figs. 3 및 4). 이는 淫羊藿의 polysaccharide가 생쥐의 suppressor T cell機能을 抑制시켜 抗體生産을 增加시켰다는 Chen 等[45]의 報告, 淫羊藿이 血淸透析 治療를 받는 患者에 있어서 末梢血液 單核球의 IL-2値를 有意하게 增加시킨다는 Liao等[54]의 報告, IL-2와 IL-6値를 또한 正常으로 回復시켰다는 Chen 等[55]의 綜合的인 報告로 미루어 볼 때, 常用量의 淫羊藿 水抽出物은 Th1과 Th2機能을 促進함으로써 血淸 中 免疫抗體를 增加시킨 것으로 생각되고, 또한 이에 대한 정확한 作用機轉을 糾明하기 위해서는 IFN-γ나 IL-4 등과 같은 여러 cytokine의 硏究가 進行되어야할 것으로 思料된다.

以上의 硏究結果로 미루어 淫羊藿 水抽出物이 T細胞에서의 cytokine生成을 亢進함으로써 B細胞에서의 各種 Ig抗體를 더욱 增加

시킨 것으로 생각된다. 따라서 淫羊藿 水抽出物의 免疫性 疾患에 대한 硏究는 앞으로 進行할만한 課題인 것으로 思料된다.

V. 結　　論

淫羊藿 水抽出物이 생쥐의 抗體에 미치는 影響을 알아보기 위하여, 實驗群을 對照群, 淫羊藿 水抽出物 40mg/kg 投與群, 120mg/kg 投與群 및 360 mg/kg 投與群의 4群으로 나누었으며, 實驗方法에 따라 생쥐의 體重變化와 脾臟의 무게變化를 測定하였고, 또한 血淸中의 免疫抗體를 測定하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 淫羊藿은 體重의 增加率에는 影響을 주지 않았다.
2. 淫羊藿은 脾臟의 重量比를 有意하게 增加시켰다.
3. 淫羊藿은 血淸 IgG抗體를 有意하게 增加시켰다.
4. 淫羊藿은 血淸 IgG1抗體를 有意하게 增加시켰다.
5. 淫羊藿은 血淸 IgG2a抗體를 有意하게 增加시켰다.
6. 淫羊藿은 血淸 IgM抗體를 有意하게 增加시켰다.

以上의 結果로 보아 淫羊藿은 高用量에서 보다는 常用量에서 血淸 中의 免疫抗體生成을 有意하게 增加시키는 바, 免疫機能의 異常으로 인한 疾患의 治療에 活用할 수 있을 것으로 思料된다.

感謝의 말

본 연구는 2000년도 두뇌한국21사업에 의하여 지원되었으며 이에 감사드립니다.

參 考 文 獻

1. 楊維傑. 黃帝內經素問譯解. 樂群出版事業有限公司, p. 3, 19, 235, 266, 1977.
2. 黃黃*義玉. 免疫學에 관한 文獻的 考察. *大韓韓醫學會誌* 1989; 10 (1): 193-226.
3. 蔡禹錫. 免役疾患의 韓方槪念과 治療에 관한 文獻的 考察. *大韓韓醫學會誌* 1991; 11 (2): 54-91.
4. 신민교. 임상본초학. 영림사, pp. 222-225, 1997.
5. Yang ZZ. Clinical applications of Yinyanghuo. *Zhejiang J Trad Clin Med* 1985; 20: 478-480.
6. Tang W, Eisenbrand G. Chinese Drug of Plant Origin. Springe-Verlag Berlin Heidelberg, pp. 491-498, 1992.
7. Liu CR, Xu LX. Analysis of active ingredients of traditional Chinese herbal drug. Assay of icariin in Epimedium. *Chin J Pharm Anal* 1984; 4: 81-84.
8. Hong H. Oriental materica medica. *Oriental Healing Arts Institute Taiwan* 1986; 563-567.
9. Yu L, Li H, Huang G, Bai Y, Dong Y. Clinical observation on treatment of 120 cases of coronary heart disease with Herba Epimedii. *J Trad Chin Med* 1992; 12910: 30-34.
10. Liu CM, Yu QH, Zhang LM. Effect of icariin on heart. *Chin Trad Herb Drugs* 1982; 13: 414-416.
11. Xie H, Wu T, Huang L, Li C. Preventive effect of gubao on hydrocortisone-induced osteoporosis in rats. *Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih* 1997; 22 (4): 234-240
12. Wu T, Cui L, Zhang Z, Chen Z, Li Q, Liao J, Huang L. Experimental study

on antagonizing action of Herba Epimedii on side effects induced by glucocorticoids. *Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih* 1996; 21 (12): 748-751.
13. Ono K, Nakane H, Zeng-Mu M, Ose Y, Sakai Y, Mizuno M. Differential inhibitory effects of various herbal extracts on the activities of reverse transcriptase and various deoxyribonucleic acid polymerases. *Chem Pharm Bull* 1989; 37 (7): 1810-1812.
14. Enavall E, Perlmann, P. Enzyme-linked immunosorbent assay Ⅲ: Quantitation of specific antibodies of enzyme labeled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes. *J Immunol* 1972; 109: 129-135.
15. 上海中醫學院. 中醫 基礎學. 香港, 商務印書館, p.101, 1977.
16. 宋鷩永. 中醫病因病機學. 北京, 人民衛生出版社, pp.62-67, 1987.
17. 鄭遇悅. 韓方病理學. 全州, 三進社, 總論, pp.15-17, 94-95, 1988.
18. 林通國 編著. 實用臨證中藥指南. 四川科學技術出版社, pp.180-182, 1990.
19. 章育正. 虛證和實證病人的免疫狀態. *上海中醫藥雜誌* 1984; 6: 44-45.
20. 趙鍾寬. 免疫에 關한 東洋醫學的 考察. *東洋醫學* 1986; 12 (1): 19-23.
21. Jie YH, Cammisuli S, Baggiolini M. Immunomodulatory effects of *Panax ginseng* C.A. Meyer in the mouse. *Agents Actions* 1984; 15: 386-391.
22. Cui JC, Liu Aj, Wang BX. Effect of ginsenosides from stems and leaves of ginseng on immunological functions. *Chin Trad Herb Drugs* 1982; 13: 29-31.
23. Wang BX, Cui JC, Liu AJ. Effect of polysaccharide of ginseng root on immnuological function. *Chin Pharm Bull* 1981; 16: 53.
24. Yuan WX, Shang XH, Jin ML, Shang K. Effects of ginseng root polysaccharides on cyclophosphamide-suppressed immunity. *J Shemyang Coll Pharm* 1986; 3: 162-165.
25. Wang BX, Cui JC, Liu AJ. The effect of ginseng on immune responses. In: Chang HM, Yeung HW, Tso WW, Koo A (eds) Advances in Chinese Medicinal Material Research. World Science, Singapore, pp. 519-527, 1985.
26. Fang SD, Chen Y, Xu XY, Ye CQ, Zhai SK, Shen ML. Studies of the active principles of *Astragalus mongholicus* Bung-I. Isolation, characterization and biological effect of its polysaccharides. *Org Chem* 1982; 26-31.
27. Liu BQ, Ma HS, Mon P. Isolation and identification of icariin. *Chin Trad Herb Drugs* 1980; 11: 20.
28. Oshima Y, Okamoto M, Hikino H. Validity of oriental medicines. Part 122. Epimedins A, B and C, flavonoid glycosides of *Epimedium koreanum* Herbs. *Heterocycles* 1987; 26: 935-938.
29. Miyase T, Ueno A, Takizawa N, Kobayashi H, Oguchi H. Studies on the glycosides of *Epimedium grandiflorum*-Ⅰ. *Chem Pharm Bull* 1987; 35: 1109-1117.
30. Miyase T, Ueno A, Takizawa N, Kobayashi H, Oguchi H. Studies on the glycosides of *Epimedium grandiflorum*-Ⅱ. *Chem Pharm Bull* 1987; 35: 3713-3719.
31. Miyase T, Ueno A, Takizawa N, Kobayashi H, Oguchi H. Studies on the glycosides of *Epimedium grandiflorum*-

Ⅲ. *Chem Pharm Bull* 1987; 36: 2475-2484.
32. Mizuno N, Hanioka S, Suzuki N, Iinuma M, Tanaka T, Liu XS, Min ZD. Flavonol glycosides from *Epimedium sagittatum*. *Phytochemistry* 1987; 26: 861-863.
33. Mizuno N, Iinuma M, Tanaka T, Sakakibara N, Hanioka S, Liu XS. Flavonol glycosides in Epimedium species. *Chem Pharm Bull* 1988; 36 (9): 3487-3490.
34. Tokuoka Y. Daigo K, Takemoto T. Studies on the constituents of flavonoids of *Epimedium grandiflorum*-Ⅳ. *Yakugaku Zasshi* 1975; 95 (27): 825-29.
35. Mizuno M, Sakakibara N, Hanilka S, Iinuma M, Tanaka T, Liu XS, Shi DW. Flavonol glycosides from *Epimedium sagittatum*. *Phytochemistry* 1988; 27: 3641-3643.
36. Ito Y, Hirayama F, Suto K, Sagara K, Toshida T. Three flavonol glycosides from *Epimedium koreanum*. *Phytochemistry* 1988; 27: 911-913.
37. Inokuchi JI, Okabe H, Yamauch T, Nagamatsu A. Inhibitors of angiotensin-converting enzyme in crude drugs-Ⅰ. *Chem Pharm Bull* 1984; 32: 3615-3618.
38. Inokuchi J, Okabe H, Yamauch T, Nagamatsu A, Nonaka G, Nishioka I. Inhibitors of angiotensin-converting enzyme in crude drugs-Ⅱ. *Chem Pharm Bull* 1985; 33: 264-269.
39. Chung QL, Chen XM, Shi SZ. Effects of *Epimedium sagittatum* on immunopathology and extracellular matrices in rats with chronic renal insufficiency. *Chung Hua Nei Ko Chih* 1994; 33 (2): 83-86.
40. Liu F, Ding G, Li J. Effects of *Epimedium sagittatum* Maxim. Polysaccharides on DNA synthesis of bone marrow cells of "yang deficiency" animal model caused by hydroxyurea. *Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih* 1991; 16 (10): 620-622.
41. Park MJ, Song JH, Kim YC. Studies on the effect of several crude drugs on cultured chicken brain cells. *Kor J Pharmacogn* 1989; 20: 32-36.
42. Iinuma M, Tanaka T, Sakakibara N, Mizuno M, Matsuda H, Shiomoto H, Kubo M. Phagocytic activity of leaves of Epimedium species on mouse reticuloendothelial system. *Yakugaku Zasshi* 1990; 110: 179-185.
43. Matsushita S, Takahashi M, Yoshida S, Weber I, Yamauchi K. Extract from barrenwort. 1985; U.S. Patent 4501734.
44. Matsushita S, Takahashi M, Yoshida S, Weber I, Yamauchi K. Polysaccharide PS-A obtained from barrenwort deriving from plants belonging to the Genus Epimedium, process for preparation and phylactic and immunostimulating agents comprising said polysaccharide PS-A effective component. 1985; U.S. Patent 4528188.
45. Chen KJ, Zhang WP. Advances on antiageing herbal medicines in China. *Abstr Chin Med* 1987; 1: 309-330.
46. Wang YC, He QZ. In vivo and in vitro studies on the effect of Epimedium extract on mouse immune response. *Shanghai J Immunol* 1986; 6: 6-9.
47. Liu FC, Liu JX, Ding GX, Zhang JY, Zhou SH, Guo F, Wu YC, Hu TH.

Correction between trace elements and immunological function in patients with vital energy deficiency. *J Trad Chin Med* 1985; 26: 856-857.

48. Kim JH, Kim IH, Chae BS, Kang TW, Park CB, Ahn YK. Effects of Epimedii Herba fraction on immune response in ICR mice. *Yakhak Hoeji* 1996; 40 (2): 230-237.
49. Vicek J, Le J. Immunology of cytokines: An introduction. In: Thomson AW, editor. The cytokine handbook. Academic Press Limited, London, p. 1-19, 1994.
50. Fong TA, Mosmann TR. The role of interferon-gamma in delayed type hypersensitivity mediated by Th1 clones. *J Immunol* 1989; 143: 2887-2893.
51. Snapper CM, Paul WE. Interferon-gamma and B cell stimulatory factor-1 reciprocally regulate immunoglobulin isotype production. *Science* 1987; 236: 944-947.
52. Mosmann TR, Coffman RL. Th1 and Th2 cells: Different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol* 1989; 7: 145-173.
53. Pond L, Wasson DL, Hayes C. Evidence for differential induction of helper T cell subset during *Trichinella spiralis* infection. *J Immunol* 1989; 143: 4232-4237.
54. Liao HJ, Chen XM, Li WG. Effect of *Epimedium sagittatum* on quality of life and cellular immunity in patients of hemodialysis maintenance. *Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih* 1995; 15 (4): 202-204.
55. Chen X, Zhou M, Wang J. Effect of *Epimedium sagittatum* on soluble IL-2 receptor and IL-6 levels in patients undergoing hemodialysis. *Chung Hua Nei Ko Tsa Chih* 1995; 34 (2): 102-104.