

部位別 鹿茸이 黑色腫 誘發 생쥐의 腫瘍抑制와 免疫機能에 미치는 影響

吳何錫 · 金璋顯

東國大學校 韓醫科大學 小兒科教室

Effects of Partial Cervus elaphus Linne' Extract on Antitumoral Immune Response in Melanoma-induced Mice

Ha-souk Oh · Jang-Hyun Kim
Dept. of Pediatrics, College of Oriental Medicine,
Dongguk University, Seoul, Korea

Introduction: In order to investigate the effects of partial Cervus elaphus Linne' extract on antitumoral immunological, a group of mice are melanoma-induced and observed responses in terms of the number of lymphocyte, CD4+ count, CD8+ count, CD4+/CD8+ ratio in blood and spleen, change in body weight, melanoma weight, spleen index, NK cell activity and productivity of IL-2 in each mouse

Methodology: Male C57BL/6 mice were chosen as an experimental object and were divided into 5 groups randomly selection. The normal group did not receive any induction. The control group was treated with normal saline in melanoma-induced mice. Sample I group induced the upper part of Cervus elaphus Linne' extract in melanoma-induced mice.

Sample II group was induced the middle part of Cervus elaphus Linne' extract in melanoma-induced mice. Sample III group was induced the lower part of Cervus elaphus Linne' extract in melanoma-induced mice. The dosage of medication was 0.2cc daily for 14days.

Results: 1. There was a significant difference in the number of lymphocyte in spleen in the sample I (upper part of Cervus elaphus Linne' extract induced) and the sample II (middle part of

Cervus elaphus Linne' extract induced) compared to the control group and the sample III (lower part of Cervus elaphus Linne' extract induced). On the other hand, no significant difference was observed in the number of lymphocyte in blood in the control group and all sample groups.

2. In the CD4+ T cell ratio in blood, all three sample groups showed differences compared to the control group, though there was no significant difference between sample groups. In the CD4+ T cell ratio in spleen, there was a difference between the sample I and the control group, while the sample II and the sample III had significant difference to the control group. And also, it has been observed there were differences between the sample I and the other samples.

3. In the CD8+ T cell ratio in spleen, all three sample groups showed significant differences compared to the control group, while there was no difference between groups in the ratio in blood.

4. In the CD4+/CD8+ T cell ratio in blood, the sample I showed a significant difference compared to the control group, while the sample II and sample III showed differences compared to the control group. In the CD4+/CD8+ T cell ratio in spleen, all three samples showed a significant difference compared to the control group, when the sample I had a difference to the other sample groups.

5. The spleen index of the sample I and the sample II showed a significant difference compared to the sample III and the control group. In comparison between the sample groups, the sample I and the sample II showed a significant difference to the sample III.

6. In terms of the change in body weight and melanoma weight, all three sample groups showed a significant difference compared to the control group, while the comparison between the sample groups showed the sample I and the sample II had a significant difference to the sample III.

7. In comparison of NK cell activity, the sample I had a difference compared to the other groups when the effector to target cell ratio was 2.5:1. With the ratio of 5:1, the sample I and sample II showed significant differences compared to the control group, while the sample III showed a difference. When the effector to target cell ratio was 10:1, there was no difference between groups.

8. In the productivity of IL-2, all three sample groups showed significant differences compared to the control group. In comparison between sample groups, there were significant differences between each sample groups in order of the sample I, the sample II and the sample III.

Conclusion: As one can witness from the above results, administration of partial Cervus elaphus Linne' extract played important role in antitumoral immune response in melanoma-induced mice, and it could be suggested that sample I and sample II groups have prominent antitumoral immune effect.

I. 緒論

科學技術의 發展에 따른 生活 및 醫療수준의 向上에도 불구하고 産業發展에 따른 環境 汚染, 스트레스 增加로 인한 發癌物質과 刺戟에의 露出 증가로 전 세계적으로 腫瘍으로 인한 死亡率이 증가되고 있으며^{6,12,28)}, 특히 小兒期의 惡性腫瘍은 成人에 비하여 發生頻도가 낮으나 小兒 疾病 死亡의 가장 흔한 原因이 되고 있다.²³⁾

韓醫學에서 腫瘍의 範疇에 屬하는 疾病은 胃·食道部位의 腫瘍을 의미하는 噎膈, 反胃와 腹部의 腫瘍을 포함하는 積聚, 癥瘕, 子宮과 卵巢의 腫瘍을 의미하는 疝癖, 腸覃 및 體表의 惡性 腫瘍이나 黑色腫 등을 의미하는 黑疔, 靑疔, 翻花瘡 등이 있다.^{37,39,43,44,47)}

腫瘍의 原因에 대하여 「黃帝內經」⁴²⁾에서 “凡七情六鬱之犯 飲食勞動之傷 而致痰凝氣聚 血築成積”이라 하고 「景岳全書」⁴⁵⁾에서 “風寒外感之邪 亦能成積”이라 한 것으로 보아, 韓醫學에서 腫瘍은 外感六淫, 七情內傷, 飲食不節, 虛勞 등에 의하여 臟腑機能과 氣血이 失調되어 氣滯血瘀, 痰結濕聚, 熱毒蘊結, 正氣虛弱, 經絡瘀阻 등의 病理變化가 單獨 혹은 相互錯雜하여 나타나는 慢性的인 疾患으로 이해할 수 있다.^{9,19)}

腫瘍의 治療法으로는 辨證施治를 根幹으로 하여 扶正祛邪法과 扶正培本法이 많이 活用되고 있으며 扶正의 方法으로는 益氣健脾, 滋陰補血, 溫補脾胃 등^{31,34,49,51,53)}과 祛邪의 方法으로는 活血祛瘀, 清熱解毒, 軟堅化痰 등^{48,52)}이 많이 活用되고 있다.

鹿茸이 腫瘍抑制와 免疫機能에 미치는 影響에 관한 연구는 高²⁴⁾의 '鹿茸, 熟地黃, 人蔘, 五加皮가 免疫

機能 및 NK cell 活性에 미치는 影響', 金²⁶⁾의 '歸茸湯이 免疫機能에 미치는 實驗的 研究'와 張³³⁾의 '蔘茸湯이 S-180에 대한 抗腫瘍效果와 cyclophosphamide에 의한 副作用 減少에 미치는 影響' 등이 있으며, 鹿茸의 種類에 따른 高²⁵⁾의 '四種 鹿茸의 免疫學的 效能에 관한 實驗的 研究'가 있었으나 鹿茸의 部位別 效能에 관한 研究는 이루어지지 않았다.

이에 著者는 壯腎陽, 益精血, 強筋骨, 調衝任 등^{1,13)}의 效果가 있어 臨床的으로 小兒의 補劑에 널리 使用되어져온 鹿茸이 部位別로 腫瘍抑制와 免疫機能에 미치는 影響을 觀察하기 위하여 黑色腫이 誘發된 생쥐에서 血液과 脾臟內의 淋巴球數, CD4+ T細胞率, CD8+ T細胞率, CD4+/CD8+ T cell ratio, 脾臟指數, 體重變化, 黑色腫 무게, NK cell 活性度, IL-2 生産能 등의 變化를 測定하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實驗

1. 材料

1) 動物

7주령 體重 21g 내외의 C57BL/6系 雄性 생쥐(대한실험동물센터)를 사용하였으며, 固形飼料(삼양사료(주), 한국)와 물을 함께 충분히 공급하면서 1주일 간 實驗室 環境에서 적응시킨 후 건강이 양호한 것을 선택하여 實驗에 사용하였다.

2) 藥材

實驗에 사용된 鹿茸은 馬鹿를 기원동물로 하는 러시아산의 元茸을 한진제약에서 購入하여 精選하여 使用하였으며, 대한약전의 생약(한약)규격집 규정에 의

하여 회분을 25%이하의 鹿茸中 각질화의 정도와 색에 따라 上帶, 中帶, 下帶로 分類하여 各 300g을 使用하였다.^{17,21)}

藥名	學名	重量(g)	
		上帶	300
鹿茸	Cervus elaphus Linne'	中帶	300
		下帶	300

3) 抗體 및 試藥

血液 및 脾臟 T 淋巴球의 表面抗原에 대한 monoclonal 抗體는 FITC anti-mouse CD4+ monoclonal antibody(Pharmingen, USA), PE anti-mouse CD8+ monoclonal antibody(Pharmingen, USA)를 使用하였다. 自然殺害細胞 活性度의 細胞毒性性能 測定에는 cytotox96TM non-radioactive cytotoxicity assay kit(Promega, USA)을 使用하였으며, Interleukin-2 生産能 測定에는 anti-mouse IL-2(purified monoclonal, Endogen, USA), biotin-labeled detecting antibody(Endogen, USA), HRP-conjugated streptavidin(Endogen, USA), TMB substrate solution (Endogen, USA)를 使用하였다.

2. 方法

1) 檢液의 調製

實驗에 使用할 鹿茸의 上帶, 中帶 및 下帶 各 300g을 5,000cc의 둥근 플라스크에 3,000cc의 蒸溜水와 함께 넣어 3시간 동안 煎湯한 후 濾過시켜 이를 減壓濃縮器에서 濃縮하였다. 그후 동결건조기에서 -40℃에서 72시간 동안 완전히 건조시켜 각각 30.77g(得水率 10.26%), 28.64g(得水率 9.55%), 27.81g(得水率 9.27%)의 extracts를 얻었다. 動物의 抗癌能과 免疫能을 測定하기 위해서 乾燥된 extracts를 實驗에 필

요한 濃도로 蒸溜水에 녹여 조정하여 50ml cornical tube(Falcon, USA)에 넣어 2-4℃의 냉장고에 보관하면서 使用할 때 필요한 만큼 완전히 녹여 使用하였으며, 浮遊物이 생기면 이를 폐기하고 건조된 extracts를 適정 濃도로 새로 만들어 使用하였다.

2) 培地의 구성

(1) 基本培地

RPMI 1640(GibcoBRL, USA)에 fungizone(GibcoBRL, USA) 4ml, penicillin G(100,000units/ml)0.1ml, streptomycin(100mg/ml Sigma, USA)1ml를 蒸溜水에 넣고 1,000ml로 조정한 후 pH를 7.2로 맞춘 다음 0.22 μ m disposable sterile bottle top filter(Corning, USA)로 濾過하여 使用하였다.

(2) 混合培地

FBS(fetal bovine serum, GibcoBRL, USA)를 56℃에서 30분간 inactivation시킨 후 基本培地에 10%의 濃도가 되도록 조정하여 使用하였으며 이는 腫瘍細胞의 培養전반에 使用되었다.

3) 腫瘍細胞의 培養 및 腫瘍의 移植

(1) 腫瘍細胞의 培養

C57BL/6系 생쥐에 黑色腫을 유발시키기 위한 腫瘍細胞柱는 서울대학교 내 韓國細胞柱銀行에서 分讓 받은 B16BL/6 細胞柱(KCLB No.80006)로서 이를 繼代 培養시켜 使用하였다.

(2) 腫瘍의 移植

實驗群과 對照群의 C57BL/6系 생쥐의 背部를 소득된 면도기를 利用하여 腫瘍細胞 注入 하루 전에 털을 제거하고 povidine(성광화학, 한국)으로 닦아준다. B16BL/6 細胞를 hemocytometer로 cell counting하여

1×10⁶개/0.1ml의 비율로 조정하고 滅菌된 1ml 주사기(녹십자, 한국)를 이용하여 注入하였다. 이후 肉眼의으로 腫瘍의 成長을 관찰하여 腫瘍이 명확하게 이 식된 생쥐만을 선택하여 檢體로 이용하였다.

4) 實驗群의 分類 및 處置

實驗動物은 正常群, 對照群, 鹿茸 上帶 投與群(實驗群 I), 鹿茸 中帶 投與群(實驗群 II) 및 鹿茸 下帶 投與群(實驗群 III)으로 구분하여 各群에 6마리씩 배 정하였다. 正常群은 固形飼料와 물만을 충분히 공급 하였고, 對照群은 正常群과 동일한 環境에서 黑色腫 을 유발시키고 實驗群과 同量의 生理食鹽水를 經口投 與하였다.

實驗群 I, II, III은 對照群과 同一한 方法으로 黑 色腫을 유발시키고 實驗群 I은 鹿茸 上帶 건조 extract를, 實驗群 II는 鹿茸 中帶 건조 extract를, 實驗群 III은 鹿茸 下帶 건조 extract를 각각 28.6mg /0.2cc로 稀釋하여 2週間에 걸쳐 午前 10時에 각각 經口投與하였다.

5) 體重의 變化 測定

腫瘍을 注入하기 전 體重과 檢液 處理後 腫瘍의 무 게를 變 體重을 比較하여 體重의 變化를 살펴보았다.

6) 腫瘍의 무게 測定

對照群과 實驗群의 생쥐를 致死시키고 腫瘍을 조 심스럽게 분리하여 重量을 測定하였다.

7) 脾臟의 臟器指數 測定

心臟 採血後 無菌 狀態에서 생쥐의 脾臟을 摘出하 여 PBS (phosphate buffered saline ; sodium chloride 8g, potassium chloride 0.2g, disodium hydrogen phosphate 1.15g, potassium dihydrogen phosphate 0.2g) 2ml가 들어 있는 petri dish에 올려

놓고 무게를 측정한 뒤 다음과 같은 식으로 臟器指數 를 測定하였다.

$$\text{臟器指數} = (\text{脾臟무게}/\text{體重})^{1/2} \times 100$$

8) 採血

생쥐를 chloroform(덕산, 한국)으로 마취하고 心臟 穿刺하여 血液을 EDTA(ethylene diamine tetraacetic acid dipotassium salt)가 들어있는 병에 넣어 잘 섞 어서 응고를 방지한 뒤 使用하였다.

9) 脾臟細胞의 浮遊液 준비

생쥐를 chloroform으로 마취시킨 후 腹部를 70% 알코올로 완전히 塗布한 후 無菌의으로 脾臟을 摘出한 뒤, 脾臟 주위의 組織들을 조심스럽게 제거하여 4℃ RPMI 1640(GibcoBRL, USA)培地로 2회 洗滌한 다음 가는 mesh(청계상공사, 한국)로 잘게 으갠 후 조 직파편을 제거하고 RPMI 1640으로 1회, HBSS (hanks balanced salt solution, GibcoBRL, USA)로 2회 洗滌하였다. 그후 滅菌된 蒸溜水로 hypotonic shock을 일으켜 赤血球를 완전히 溶血시킨 뒤 10× HBSS로 2회 洗滌하고 RPMI 1640培地로 한번 더 洗 滌한 다음 10% FBS가 添加된 混合培地에 脾臟細胞 를 再浮遊하였다.

10) 淋巴球 分離

EDTA를 使用하여 凝固防止한 血液에 同量의 PBS 를 섞은 것과 脾臟細胞浮遊液에 lymphoprep (1.077 ±0.0001g/ml, Nycomed Pharma As, Oslo, Norway) 를 添加하여 25분 동안 2,000rpm에서 遠心分離하여 上層을 버리고, 중간에 하얗게 浮遊해 있는 lymphocyte를 分離하였다. 分離된 lymphocyte를 PBS에 浮遊시켜서 2,000rpm에서 10분간 2회 遠心洗 滌한 후 RPMI 1640 medium에 浮遊시키고, 光學顯

微鏡을 이용하여 trypan blue exclusion으로 細胞數를 測定하였다.

11) 血液 및 脾臟 淋巴球의 CD4+, CD8+T細胞率 測定

RPMI 1640에 浮遊시킨후 각 淋巴球 細胞를 media A(pH 7.2 PBS + 5 % normal serum of host species + 2M sodium azide)에 2×10^7 cells/ml의 농도로 細胞를 再浮遊시키고, 試驗管에 細胞浮遊液 50 μ l씩 넣어서 試驗管마다 1×10^6 개의 細胞가 存在하게 했다. 각 試驗管에 FITC anti-mouse CD4+ monoclonal antibody (Pharmingen, USA)와 PE anti-mouse CD8+ monoclonal antibody (Pharmingen, USA)를 각각 0.5 μ g씩 加하고 vortex mixer로 잘 섞는다. 이 混合液을 빛이 遮斷되도록 알루미늄 호일을 씌우고 4°C에서 30분간 培養한 뒤, 4°C에서 PBS로 2회 洗滌하고, 50 μ l의 ice cold media B(pH 7.2 PBS + 0.5 % bovine serum albumin + 2M sodium azide)에서 cell pellet을 再浮遊시킨 후 淋巴球에 의한 CD4+, CD8+ T細胞率을 測定하였다.

12) 自然殺害細胞(NK cell) 活性化의 測定^{55,56,61)}

(1) 作動細胞(effector cell)의 준비

各 群에서 생쥐를 치사시켜 實驗方法에 의해 준비한 脾臟細胞를 作動細胞로 使用하였다.

(2) 標的細胞(target cell)의 준비

NK cell의 殺害能測定 標的細胞는 韓國細胞柱銀行에서 分讓받은 생쥐의 lymphoma cell line인 YAC-1 細胞(KCLB No. 40160)를 使用하였다. 分讓받은 후 본 實驗室에서 FBS(fetal bovine serum, GibcoBRL, USA)가 10% 添加된 RPMI 1640 混合培地에 繼代培養하면서 測定에 臨하였다.

(3) 細胞毒性的의 測定

① 基本方法

細胞毒性實驗은 cytotox96TM non-radioactive cytotoxicity assay kit(Promega, USA)를 利用하여 실시하였다. 즉, 細胞의 溶解時에 방출되는 lactate dehydrogenase(以下 LDH라 칭함)가 酵素反應의 結果로 나타나는 赤色の 發光정도를 ELISA판독기(E-max precision microplate reader, Molecular Dvice, USA)를 利用하여 可視光線領域의 波長(490nm)에서 吸光度를 測定함으로써 溶解된 細胞의 數를 추정하는 것이다.

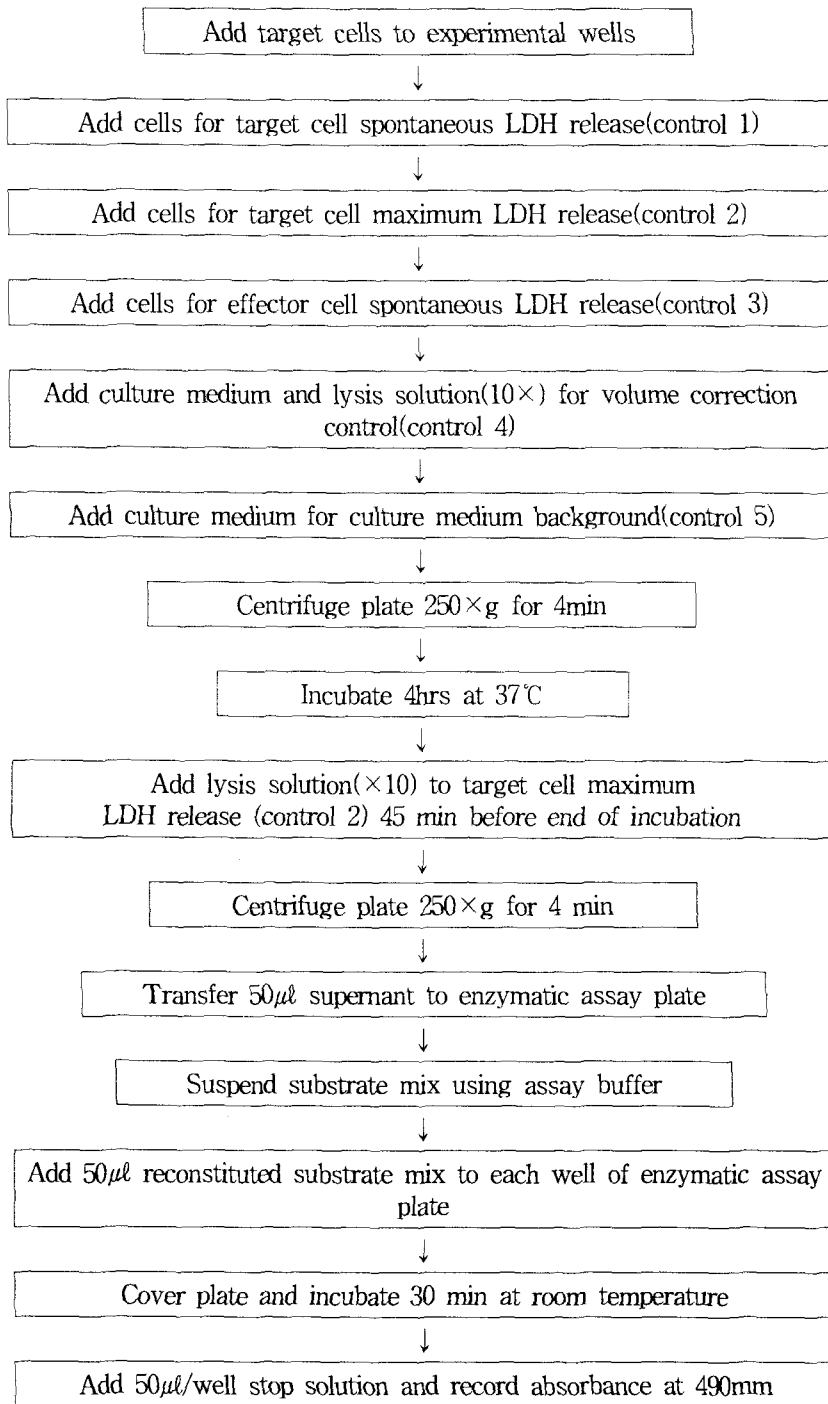
② 對照 well의 준비

오차를 補正하기 위하여 5種類의 對照 well을 두었다. 標的細胞의 LDH 自然放出量을 나타내는 對照 well 1은 最適數의 標的細胞 100 μ l와 培地 100 μ l로 構成하였고, 標的細胞의 LDH 最大放出量을 나타내는 對照 well 2는 最適數의 標的細胞 100 μ l와 培地 100 μ l로 構成하였다.

作動細胞의 LDH 自然放出量을 나타내는 對照 well 3은 最適數의 作動細胞 100 μ l와 培地 100 μ l로 構成하였고, 부피를 補正하기 위한 對照 well 4는 溶解溶液을 添加하여 發生하는 부피의 變化에 의한 誤差를 補正하기 위한 것으로 培地 200 μ l와 溶解溶液(100 \times) 20 μ l로 構成하였으며, 培地の background로서 培地內 血清이나 phenol red에 기인한 LDH의 活動能을 補正하기 위한 對照 well 5는 培地 200 μ l로 構成하였다.

③ 測定方法

NK cell 活性化의 細胞毒性能 測定은 YAC-1 細胞를 標的細胞로 利用하여 FBS가 添加된 RPMI 1640 混合培地에 5×10^4 cells/ml의 濃도로 再浮遊하고, 96

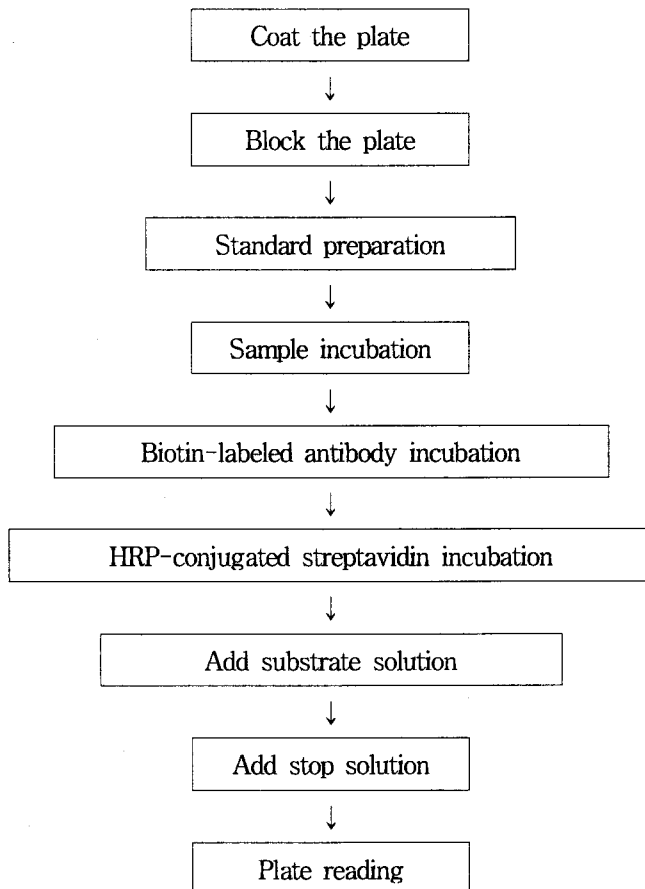


Scheme 1. Flow chart for procedure of NK-activity

well microtitration plate(round bottom, Falcon, USA)에 well당 100 μ l씩 分株한 후, 作動細胞와 標的細胞의 比가 10 : 1, 5 : 1, 2.5 : 1이 되도록 하여 FBS가 10% 添加된 混合培地에 調整된 脾臟細胞를 well에 100 μ l를 分株하여 최종부피가 200 μ l/well이 되도록 한 후 37 $^{\circ}$ C, CO₂ incubator 에서 4시간 培養하였다. 培養 종료 45분전에 對照 well 2에 100 μ l당 10 μ l의 溶解溶液(10 \times)을 添加하고 培養 終了時 100rpm으로 4분간 원심분리한 후 새로운 96 well

plate에 모든 well로부터 上層液을 50 μ l씩 옮긴 후, assay buffer 12ml를 substrate mix병에 넣어 常溫에서 30분간 培養하였다. 준비된 substrate mix를 모든 well에 50 μ l씩 넣고 常溫에서 30분간 알루미늄 호일에 싸서 빛을 차단한 채 培養하였다. 培養後 50 μ l의 정지용액을 각 well에 넣은 후 1시간 以內에 注射器로 거품을 除去하고 490nm에서 吸光度를 測定하였다.

測定된 實驗값, 標的細胞 LDH 自然放出값 및 作



Scheme 2. Flow chart for procedure of IL-2 productivity.

動細胞 LDH 自然放出값에서 培地の background값을 빼고, 標的細胞 LDH 最大放出量에서 부피보정값을 뺀 후 다음의 공식에 의하여 細胞毒性能을 測定하였다.

$$\% \text{ cytotoxicity} = \frac{(A-B)-C}{D-C} \times 100$$

A : Experimental - culture medium background

B : Effector cell spontaneous LDH release - culture medium background

C : Target cell spontaneous LDH release - culture medium background

D : Target cell maximum LDH release - volume correction control

13) Interleukin-2(IL-2) 生産能 測定⁵⁷⁾

준비된 脾臟細胞를 FBS가 10% 添加된 RPMI 1640 混合培地에 1×10^6 cells/ml의 농도로 再浮遊하고, 여기에 concanavalin-A(Sigma, USA)를 100 μ g/ml의 농도로 가한 후 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ incubator에서 24시간동안 培養한 후 上層液을 수거하여 sample을 준비하고 IL-2의 生産能을 測定하였다.

생쥐 IL-2의 測定은 免疫酵素 測定法을 이용하여 450nm의 파장에서 吸光度를 測定하여 표준곡선으로부터 mouse 검체 내의 IL-2의 농도를 산정할 수 있는 方法을 利用하였다. 96 well plate의 각 well을 coating buffer(phosphate buffered saline, pH7.4)로 희석된 anti-mouse IL-2 (purified monoclonal, Endogen, USA) 100 μ l씩 분주하고 plate를 seal하여 常溫(20-25 $^{\circ}$ C)에서 overnight하여 coating한다. 다음 날 각 well 당 wash buffer(50mM TRIS, 0.2% Tween-20, pH 7.9-8.1) 300 μ l씩으로 1회 洗滌하고

각 well 당 200 μ l의 assay buffer(PBS with 4% bovine serum albumin, pH 7.2-7.4)로 plate를 blocking한다. 표준곡선을 구하기 위해 standard를 2배씩 serial dilution하여 2250pg/ml부터 0pg/ml까지 50 μ l씩 분주하고 mouse 脾臟 cell에서 준비한 sample도 50 μ l씩 각 well에 분주한 후 plate를 seal하여 常溫에서 1시간 培養한다. Plate를 wash buffer로 3회 洗滌한 후 assay buffer에 희석된 biotin-labeled detecting antibody(Endogen, USA) 100 μ l씩 각 well에 분주한 후 plate를 seal하여 常溫에서 1시간 培養한다. Plate를 wash buffer로 3회 洗滌한 후 assay buffer에 희석된 HRP-conjugated streptavidin(Endogen, USA) 100 μ l씩을 각 well에 분주하고 plate를 seal하여 常溫에서 30분간 培養한다. Plate를 wash buffer로 3회 洗滌한 후 TMB substrate solution (Endogen, USA)을 각 well당 100 μ l씩 분주하고 常溫에서 6-7분간 培養한다. Stop solution(0.18M H₂SO₄)을 각 well당 100 μ l씩 가하여 30분 이내에 ELISA 판독기(E-max precision microplate reader, Molecular Devices, USA)로 파장 450nm에서 吸光度를 測定하였다. 그리고 이를 standard curve 상에서 測定된 吸光度에 해당하는 IL-2의 농도를 읽었다.

14) 統計處理

各 群의 統計處理는 SPSS를 利用하였으며, ANOVA 方法에 의한 F 檢定을 하여(p<0.05), 群間의 差異를 確認한 후 有意水準 95% ($\alpha=0.05$)에서 사후검정으로 Duncan방법을 사용하여 多衆比較하였다.

Ⅲ. 成績

1. 血液內 淋巴球數

正常群이 $4.48 \pm 0.89 (\times 10^6/ml)$, 對照群이 $1.07 \pm 0.15 (\times 10^6/ml)$, 實驗群 I 이 $1.67 \pm 0.52 (\times 10^6/ml)$,

實驗群 II 는 $0.83 \pm 0.35 (\times 10^6/ml)$, 實驗群 III 은 $0.95 \pm 0.30 (\times 10^6/ml)$ 로 나타났다.

實驗群間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위한 Duncan 多衆比較에서 對對照群은 正常群에 비하여 有意한 減少를 나타내었으며, 對照群과 實驗群 및 實驗群 各 群間的 比較에서는 有意한 차이가 없었다.

(Table I, Fig. 1)

Table I. Effect of Cervus elaphus Linne' Extract on the Blood Lymphocyte Count in Melanoma-induced Mice.

Group	No. of animal	Blood lymphocyte count($\times 10^6$)	Duncan Grouping
Normal	6	$4.48 \pm 0.89^*$	B**
Control	6	1.07 ± 0.15	A
Sample I	6	1.67 ± 0.52	A
Sample II	6	0.83 ± 0.35	A
Sample III	6	0.95 ± 0.30	A
F-value		11.178	

* Mean \pm Standard error of 6 mice

** The same letters are not significantly different at the $\alpha = 0.05$ level by Duncan test.

Normal : Untreated group

Control : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1ml$) and treated with normal saline for 0.2cc/14days in this group.

Sample I : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1ml$) and treated with upper part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days this group.

Sample II : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1ml$) and treated with middle part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample III : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1ml$) and treated with lower part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

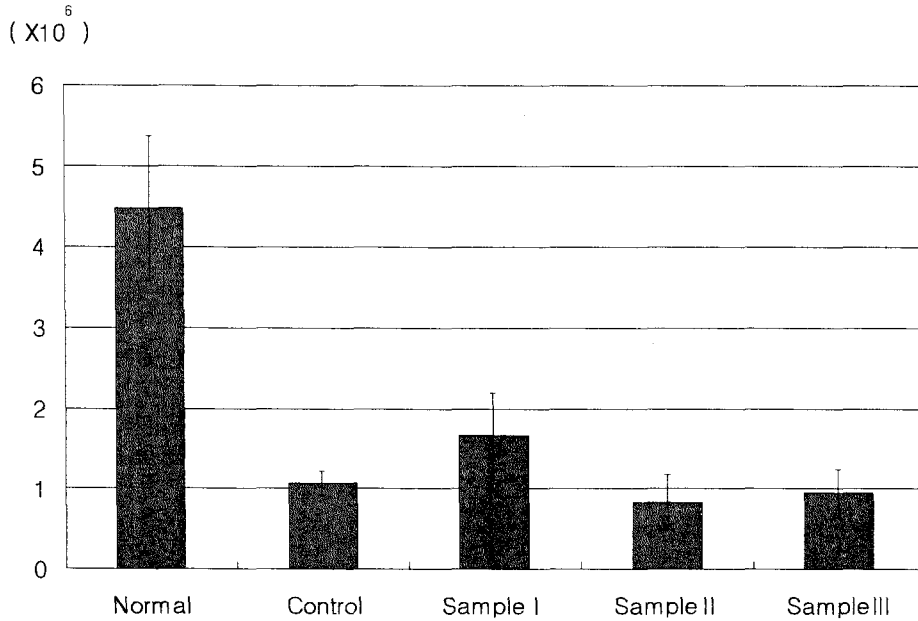


Fig. 1 Effect of Cervus elaphus Linne' extract on the blood lymphocyte count in melanoma-induced mice.

2. 脾臟內 淋巴球數

正常群이 $14.95 \pm 2.42 (\times 10^6/ml)$, 對照群이 $6.45 \pm 0.93 (\times 10^6/ml)$, 實驗群 I 은 $11.46 \pm 1.29 (\times 10^6/ml)$, 實驗群 II 는 $10.28 \pm 2.32 (\times 10^6/ml)$, 實驗群 III 은 $7.25 \pm 1.49 (\times 10^6/ml)$ 로 나타났다.

實驗群間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위한 Duncan 多衆比較에서 對對照群은 正常群에 비하여 有意한 減少를 나타내었으며, 對照群과 實驗群間의 比較에서는 實驗群 I, II가 對照群과 實驗群 III에 비하여 차이가 인정되었으며, 實驗群 各 群間의 比較에서도 實驗群 I, II가 實驗群 III에 비하여 차이가 인정되었다.(Table II, Fig. 2)

Table II. Effect of Cervus elaphus Linne' Extract on the Spleen Lymphocyte Count in Melanoma-induced Mice.

Group	No. of animal	Spleen lymphocyte count($\times 10^6$)	Duncan Grouping
Normal	6	14.95 \pm 2.42*	B**
Control	6	6.45 \pm 0.93	A
Sample I	6	11.46 \pm 1.29	AB
Sample II	6	10.28 \pm 2.32	AB
Sample III	6	7.25 \pm 1.49	A
F-value		3.664	

* Mean \pm Standard error of 6 mice

** The same letters are not significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan test.

Normal : Untreated group

Control : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with normal saline for 0.2cc/14days in this group.

Sample I : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with upper part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample II : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with middle part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample III : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with lower part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

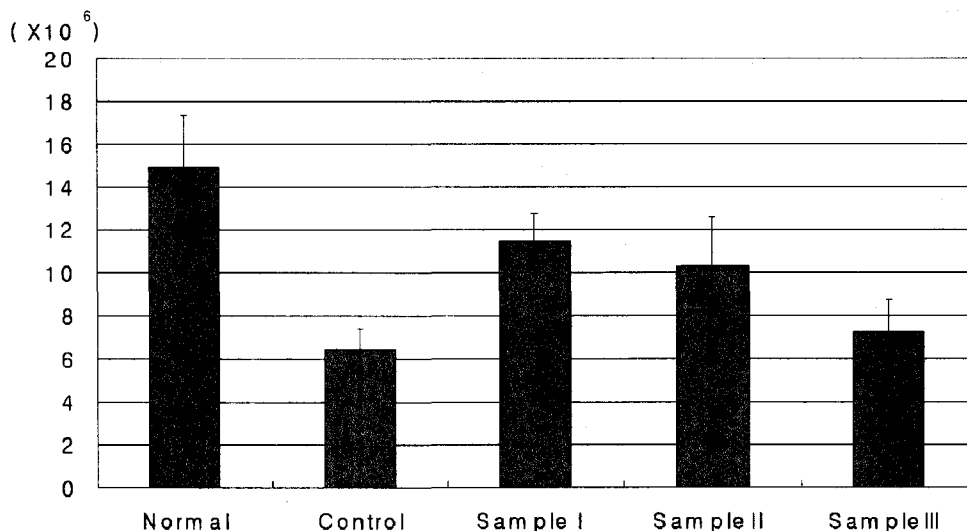


Fig. 2 Effect of Cervus elaphus Linne' extract on the spleen lymphocyte count in melanoma-induced mice.

3. 血液內 CD4+ T細胞率

正常群이 27.75±1.14%, 對照群이 21.17±1.11%, 實驗群 I은 24.83±1.54%, 實驗群 II는 24.67±0.42%, 實驗群 III은 24.00±1.51%로 나타났다.

實驗群間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위

한 Duncan 多衆比較에서 對對照群은 正常群에 비하여 有意한 減少를 나타내었으며, 對照群과 實驗群間의 比較에서는 實驗群 I, II, III에서 對照群에 비하여 차이가 인정되었으나, 實驗群 各 群間의 比較에서는 有意한 차이가 없었다.(Table III, Fig. 3)

Table III. Effect of Cervus elaphus Linne' Extract on the Blood CD4+ T cell Count in Melanoma-induced Mice.

Group	No. of animal	Blood CD4+ count (%)	Duncan Grouping
Normal	6	27.75±1.14*	B**
Control	6	21.17±1.11	A
Sample I	6	24.83±1.54	AB
Sample II	6	24.67±0.42	AB
Sample III	6	24.00±1.51	AB
F-value		3.765	

* Mean ± Standard error of 6 mice

** The same letters are not significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan test.

Normal : Untreated group

Control : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with normal saline for 0.2cc/14days in this group.

Sample I : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with upper part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample II : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with middle part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample III : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with lower part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

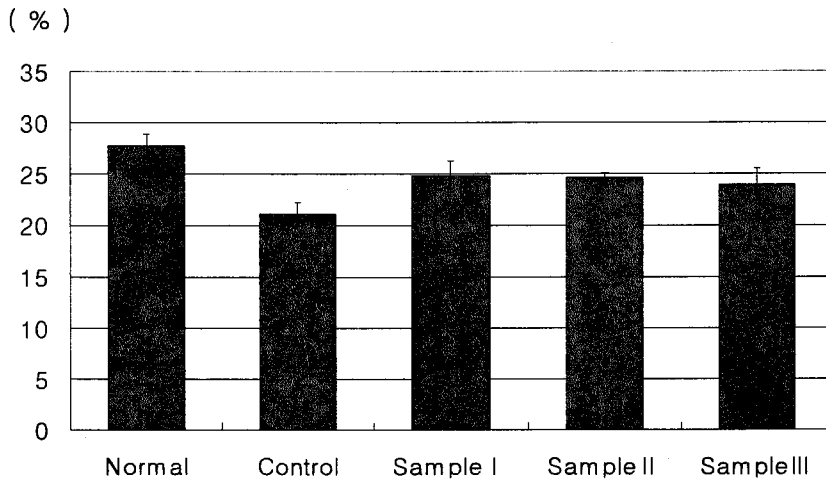


Fig. 3 Effect of Cervus elaphus Linne' extract on the blood CD4+ T cell count in melanoma-induced mice.

4. 血液內 CD8+ T細胞率

正常群이 19.20 ± 1.22%, 對照群이 25.20 ± 2.12%, 實驗群 I 은 20.00 ± 1.46%, 實驗群 II 는 22.17 ±

1.05%, 實驗群 III 은 21.40 ± 0.99%로 나타났다.

實驗群間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위하여 Duncan 檢定法으로 分散分析한 結果 F-value는 2.655로 統計學的인 有意性이 認定되지 않았다. (Table IV, Fig. 4)

Table IV. Effect of Cervus elaphus Linne' Extract on the Blood CD8+ T cell Count in Melanoma-induced Mice.

Group	No. of animal	Blood CD8+ count (%)	Duncan Grouping
Normal	6	19.20 ± 1.22*	A**
Control	6	25.20 ± 2.12	B
Sample I	6	20.00 ± 1.46	A
Sample II	6	22.17 ± 1.05	AB
Sample III	6	21.40 ± 0.99	AB
F-value		2.655	

* Mean \pm Standard error of 6 mice

** The same letters are not significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan test.

Normal : Untreated group

Control : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with normal saline for 0.2cc/14days in this group.

Sample I : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with upper part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample II : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with middle part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample III : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with lower part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

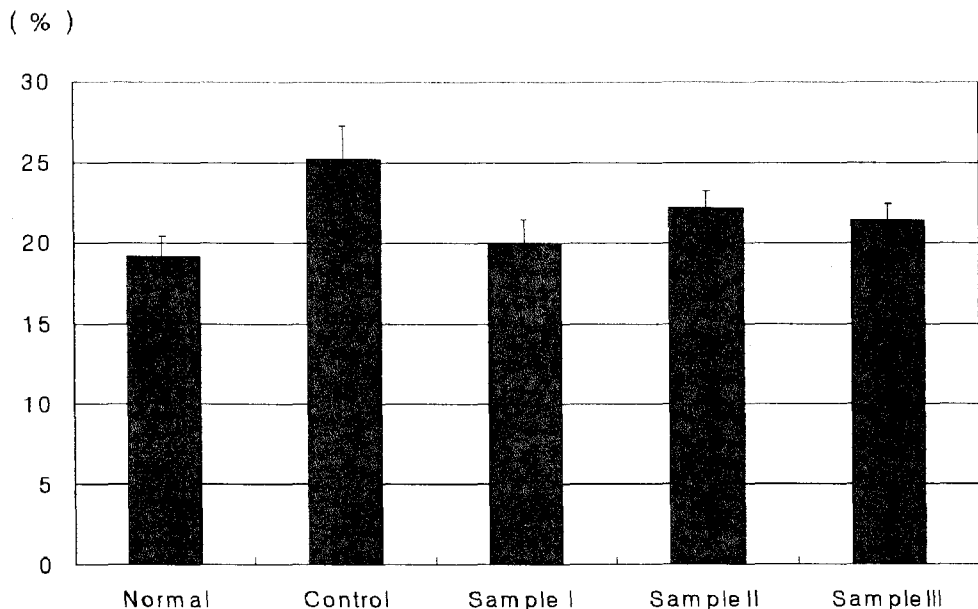


Fig. 4 Effect of Cervus elaphus Linne' extract on the blood CD8+ T cell count in melanoma-induced mice.

5. 血液內 CD4+/CD8+ T cell ratio

正常群이 1.48±0.13%, 對照群이 0.87±0.08%, 實驗群 I 은 1.27±0.11%, 實驗群 II 는 1.13±0.06%, 實驗群 III 은 1.13±0.07로 나타났다.

實驗群間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위한 Duncan 多衆比較에서 對對照群은 正常群에 비하

여 有意한 減少를 나타내었으며, 對照群과 實驗群間의 비교에서는 實驗群 I 이 對照群에 비하여 有意한 차이가 인정되었고, 實驗群 II, III 은 對照群에 비하여 차이가 인정되었으며, 實驗群 各 群間의 비교에서도 實驗群 I 이 實驗群 II, III 에 비하여 차이가 인정되었다.(Table V, Fig. 5)

Table V. Effect of Cervus elaphus Linne' Extract on the Blood CD4+/CD8+ T cell Ratio in Melanoma-induced Mice.

Group	No. of animal	Blood CD4+/CD8+ T cell ratio	Duncan Grouping
Normal	6	1.48±0.13*	C**
Control	6	0.87±0.08	A
Sample I	6	1.27±0.11	BC
Sample II	6	1.13±0.06	AB
Sample III	6	1.13±0.07	AB
F-value		5.676	

* Mean ± Standard error of 6 mice

** The same letters are not significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan test.

Normal : Untreated group

Control : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with normal saline for 0.2cc/14days in this group.

Sample I : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with upper part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample II : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with middle part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample III : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with lower part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

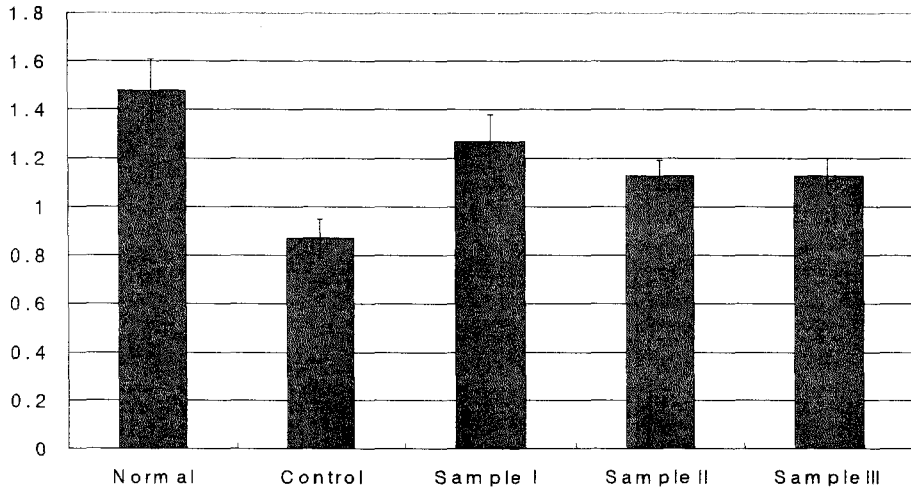


Fig. 5 Effect of Cervus elaphus Linne' extract on the blood CD4+/CD8+ T cell ratio in melanoma-induced mice.

6. 脾臟內 CD4+ T細胞率

正常群이 31.60±0.55%, 對照群이 23.60±1.14%, 實驗群 I은 26.50±1.31%, 實驗群 II는 28.83±2.63%, 實驗群 III은 28.50±0.80%로 나타났다.

實驗群間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위한 Duncan 多衆比較에서 對對照群은 正常群에 비하

여 有意한 減少를 나타내었으며, 對照群과 實驗群間의 比較에서는 實驗群 I이 對照群에 비하여 차이가 인정되었고 實驗群 II, III은 對照群에 비하여 有意한 차이가 인정되었으며, 實驗群 各 群間의 比較에서는 實驗群 II, III이 實驗群 I에 비하여 차이가 인정되었다.(Table VI, Fig. 6)

Table VI. Effect of Cervus elaphus Linne' Extract on the Spleen CD4+ T cell Count in Melanoma-induced Mice

Group	No. of animal	Spleen CD4+ T cell count (%)	Duncan Grouping
Normal	6	31.60±0.55*	C**
Control	6	23.60±1.14	A
Sample I	6	26.50±1.31	AB
Sample II	6	28.83±2.63	BC
Sample III	6	28.50±0.80	BC
F-value		4.061	

* Mean \pm Standard error of 6 mice

** The same letters are not significantly different at the $\alpha = 0.05$ level by Duncan test.

Normal : Untreated group

Control : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with normal saline for 0.2cc/14days in this group.

Sample I : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with upper part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample II : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with middle part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample III : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with lower part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

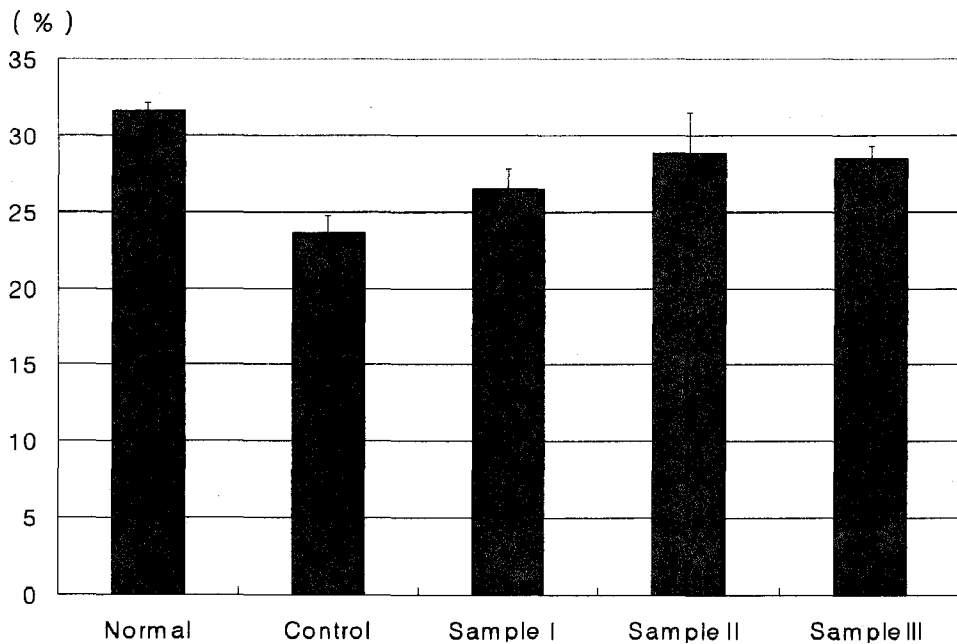


Fig. 6 Effect of Cervus elaphus Linne' extract on the spleen CD4+ T cell count in melanoma-induced mice.

7. 脾臟內 CD8+ T細胞率

正常群이 18.80±0.98%, 對照群이 26.50±2.51%, 實驗群 I 은 18.20±1.05%, 實驗群 II 는 20.17±1.74%, 實驗群 III 은 20.83±0.79%로 나타났다.

實驗群間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위

한 Duncan 多衆比較에서 對對照群은 正常群에 비하여 有意한 增加를 나타내었으며, 對照群과 實驗群間의 比較에서는 實驗群 I, II, III이 對照群에 비하여 有意한 차이가 인정되었으며, 實驗群 各 群間의 比較에서는 有意한 차이가 없었다.(Table VII, Fig. 7)

Table VII. Effect of Cervus elaphus Linne' Extract on the Spleen CD8+ T cell Count in Melanoma-induced Mice.

Group	No. of animal	Spleen CD8+ count (%)	Duncan Grouping
Normal	6	18.80±0.98*	A**
Control	6	26.50±2.51	B
Sample I	6	18.20±1.05	A
Sample II	6	20.17±1.74	A
Sample III	6	20.83±0.79	A
F-value		4.539	

* Mean ± Standard error of 6 mice

** The same letters are not significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan test.

Normal : Untreated group

Control : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with normal saline for 0.2cc/14days in this group.

Sample I : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with upper part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample II : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with middle part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample III : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with lower part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

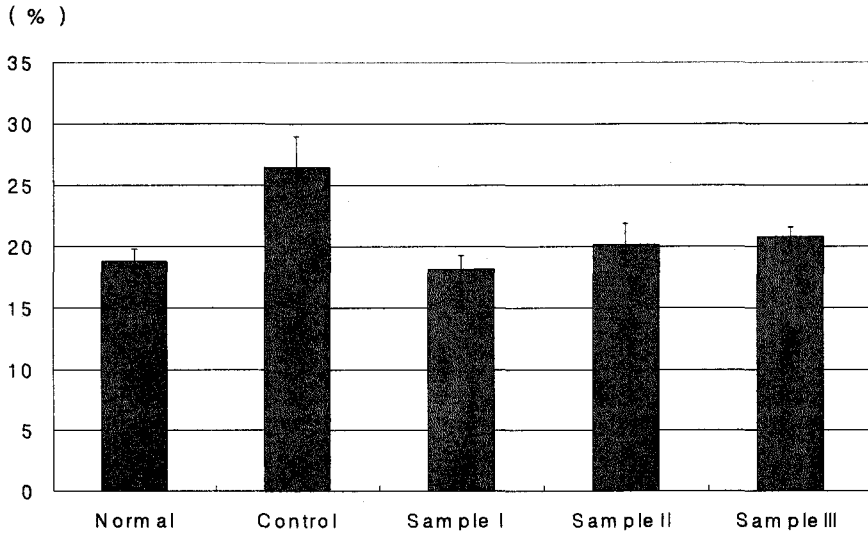


Fig. 7 Effect of Cervus elaphus Linne' extract on the spleen CD8+ T cell count in melanoma-induced mice.

8. 脾臟內 CD4+/CD8+ T cell ratio

正常群이 1.71±0.10%, 對照群이 0.94±0.13%, 實驗群 I 은 1.48±0.10%, 實驗群 II 는 1.37±0.06%, 實驗群 III 은 1.38±0.06%로 나타났다.

實驗群間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위

한 Duncan 多衆比較에서 對對照群은 正常群에 비하여 有意한 減少를 나타내었으며, 對照群과 實驗群間의 比較에서는 實驗群 I, II, III이 對照群에 비하여 有意한 차이가 인정되었으며, 實驗群 各 群間의 比較에서는 實驗群 I 이 實驗群 II, III에 비하여 차이가 인정되었다.(Table VIII, Fig. 8)

Table VIII. Effect of Cervus elaphus Linne' Extract on the Spleen CD4+/CD8+ T cell Ratio in Melanoma-induced Mice.

Group	No. of animal	Spleen CD4+/CD8+ T cell ratio	Duncan Grouping
Normal	6	1.71±0.10*	C**
Control	6	0.94±0.13	A
Sample I	6	1.48±0.10	BC
Sample II	6	1.37±0.06	B
Sample III	6	1.38±0.06	B
F-value		8.67	

* Mean \pm Standard error of 6 mice

** The same letters are not significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan test.

Normal : Untreated group

Control : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with normal saline for 0.2cc/14days in this group.

Sample I : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with upper part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample II : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with middle part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample III : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with lower part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

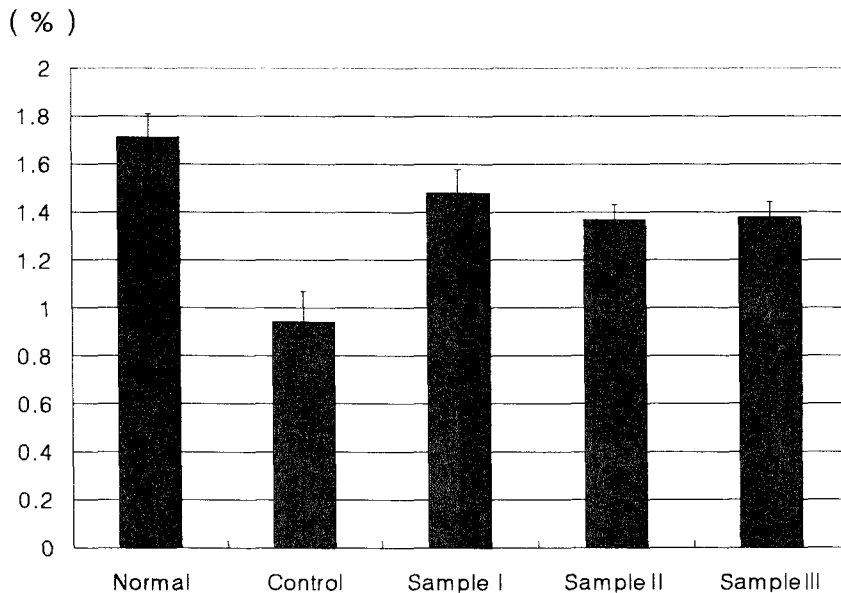


Fig. 8 Effect of Cervus elaphus Linne' extract on the spleen CD4+/CD8+ T cell ratio in melanoma-induced mice.

9. 脾臟指數

正常群이 9.02 ± 0.48 , 對照群이 4.72 ± 0.05 , 實驗群 I 은 8.40 ± 0.53 , 實驗群 II 는 8.37 ± 0.66 , 實驗群 III 은 5.40 ± 0.12 로 나타났다. 實驗群間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위

한 Duncan 多衆比較에서 對對照群은 正常群에 비하여 有意한 減少를 나타내었으며, 對照群과 實驗群間의 비교에서는 實驗群 I, II가 對照群과 實驗群III에 비하여 有意한 차이가 인정되었으며, 實驗群 各 群間의 비교에서도 實驗群 I, II가 實驗群III에 비하여 有意한 차이가 인정되었다.(Table IX, Fig. 9)

Table IX. Effect of Cervus elaphus Linne' Extract on the Spleen Index in Melanoma-induced Mice.

Group	No. of animal	Spleen index	Duncan Grouping
Normal	6	$9.01 \pm 0.48^*$	B**
Control	6	4.72 ± 0.05	A
Sample I	6	8.40 ± 0.53	B
Sample II	6	8.37 ± 0.66	B
Sample III	6	5.40 ± 0.12	A
F-value		19.850	

* Mean \pm Standard error of 6 mice

** The same letters are not significantly different at the $\alpha = 0.05$ level by Duncan test.

Normal : Untreated group

Control : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with normal saline for 0.2cc/14days in this group.

Sample I : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with upper part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample II : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with middle part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample III : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with lower part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

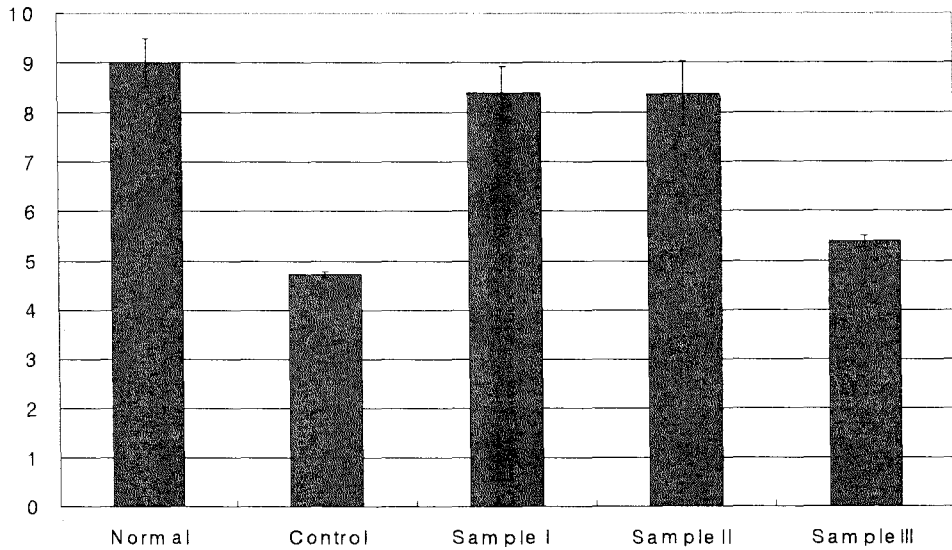


Fig. 9 Effect of Cervus elaphus Linne' extract on the spleen index in melanoma-induced mice.

10. 體重變化

正常群이 $6.48 \pm 0.48g$, 對照群이 $0.60 \pm 0.83g$, 實驗群 I 은 $4.05 \pm 0.67g$, 實驗群 II 는 $3.46 \pm 0.20g$, 實驗群 III 은 $1.98 \pm 0.26g$ 로 나타났다.

實驗群間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위

한 Duncan 多衆比較에서 對對照群은 正常群에 비하여 有意한 減少를 나타내었으며, 對照群과 實驗群間의 비교에서는 實驗群 I, II, III이 對照群에 비하여 有意한 차이가 인정되었으며, 實驗群 各 群間의 비교에서는 實驗群 I, II가 實驗群 III에 비하여 有意한 차이가 인정되었다.(Table X, Fig. 10)

Table X. Effect of Cervus elaphus Linne' Extract on the Changes of Body weight in Melanoma-induced Mice.

Group	No. of animal	Changes of body weight(g)	Duncan Grouping
Normal	6	$6.48 \pm 0.48^*$	D**
Control	6	0.60 ± 0.83	A
Sample I	6	4.05 ± 0.67	C
Sample II	6	3.46 ± 0.20	C
Sample III	6	1.98 ± 0.26	B
F-value		23.480	

* Mean \pm Standard error of 6 mice

** The same letters are not significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan test.

Normal : Untreated group

Control : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with normal saline for 0.2cc/14days in this group.

Sample I : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with upper part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample II : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with middle part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample III : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with lower part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

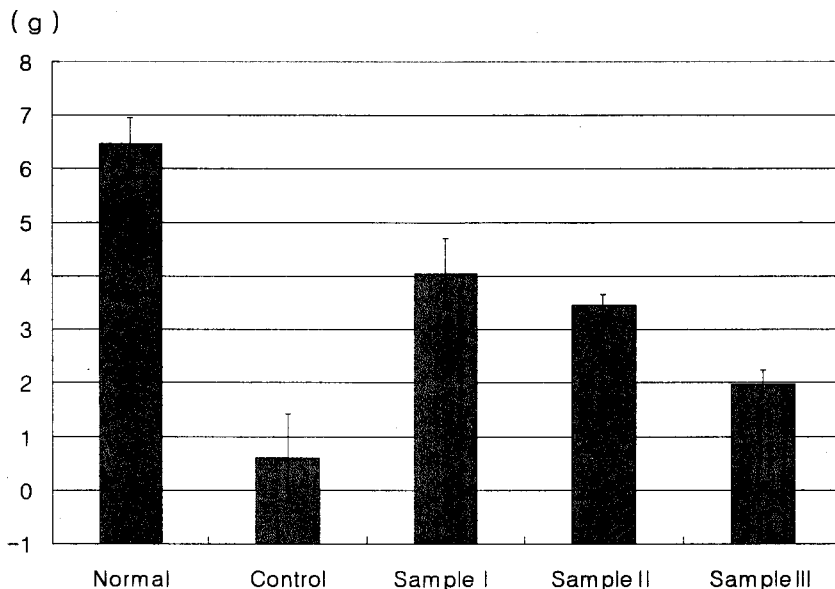


Fig. 10 Effect of Cervus elaphus Linne' extract on the changes in body weight in melanoma-induced mice.

· 黑色腫의 무게

對照群이 $3.57 \pm 0.43g$, 實驗群 I 이 $0.98 \pm 0.11g$, 實驗群 II 는 $1.16 \pm 0.28g$, 實驗群 III 은 $2.38 \pm 0.27g$ 의 나타났다.

實驗群間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위 Duncan 多衆比較에서 對照群과 實驗群間의 비교

에서는 實驗群 I, II, III이 對照群에 비하여 有意한 차이가 인정되었으며, 實驗群 各 群間의 비교에서는 實驗群 I, II가 實驗群 III에 비하여 有意한 차이가 인정되었다.(Table XI, Fig. 11)

Table XI. Effect of Cervus elaphus Linne' Extract on the Melanoma weight in Melanoma-induced Mice.

Group	No. of animal	Melanoma weight(g)	Duncan Grouping
Control	6	$3.57 \pm 0.43^*$	C**
Sample I	6	0.98 ± 0.11	A
Sample II	6	1.16 ± 0.28	A
Sample III	6	2.38 ± 0.27	B
F-value		16.462	

* Mean \pm Standard error of 6 mice

** The same letters are not significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan test.

Normal : Untreated group

Control : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1ml$) and treated with normal saline for 0.2cc/14days in this group.

Sample I : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1ml$) and treated with upper part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample II : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1ml$) and treated with middle part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample III : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1ml$) and treated with lower part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

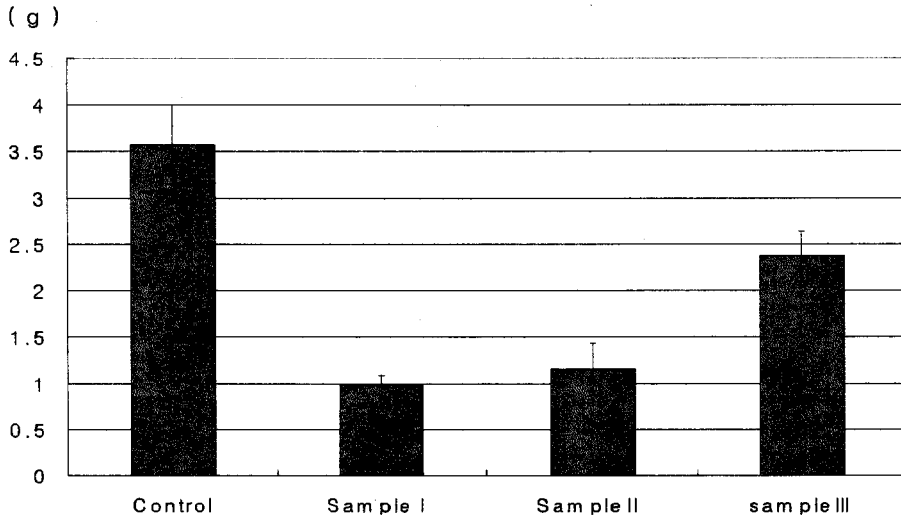


Fig. 11 Effect of Cervus elaphus Linne' extract on the melanoma weight in melanoma-induced mice.

12. NK cell 活性化에 미치는 影響

1) 作動細胞 對 標的細胞의 比가 2.5:1인 경우

正常群이 6.83±0.58%, 對照群이 4.30±0.21%, 實驗群 I 은 5.73±0.99%, 實驗群 II는 4.96±0.55%, 實驗群 III은 0.48±0.23%로 나타났다.

實驗群間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위

한 Duncan 多衆比較에서 對照群은 正常群에 비하여 有意한 減少를 나타내었으며, 對照群과 實驗群間的 비교에서는 實驗群 I이 對照群과 實驗群 II, III에 비하여 차이가 인정되었으며, 實驗群 各 群間的 비교에서도 實驗群 I이 實驗群 II, III에 비하여 차이가 인정되었다.(Table XII-1, Fig. 12-1)

Table XII-1. Effect of Cervus elaphus Linne' Extract on the NK cell Activity with Effector/Target cell Ratio at 2.5 : 1 in Melanoma-induced Mice.

Group	No. of animal	NK cell activity (%)	Duncan Grouping
Normal	6	6.83±0.58*	B**
Control	6	4.30±0.21	A
Sample I	6	5.73±0.99	AB
Sample II	6	4.96±0.55	A
Sample III	6	4.48±0.23	A
F-value		3.130	

* Mean \pm Standard error of 6 mice

** The same letters are not significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan test.

Normal : Untreated group

Control : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with normal saline for 0.2cc/14days in this group.

Sample I : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with upper part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample II : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with middle part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample III : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with lower part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

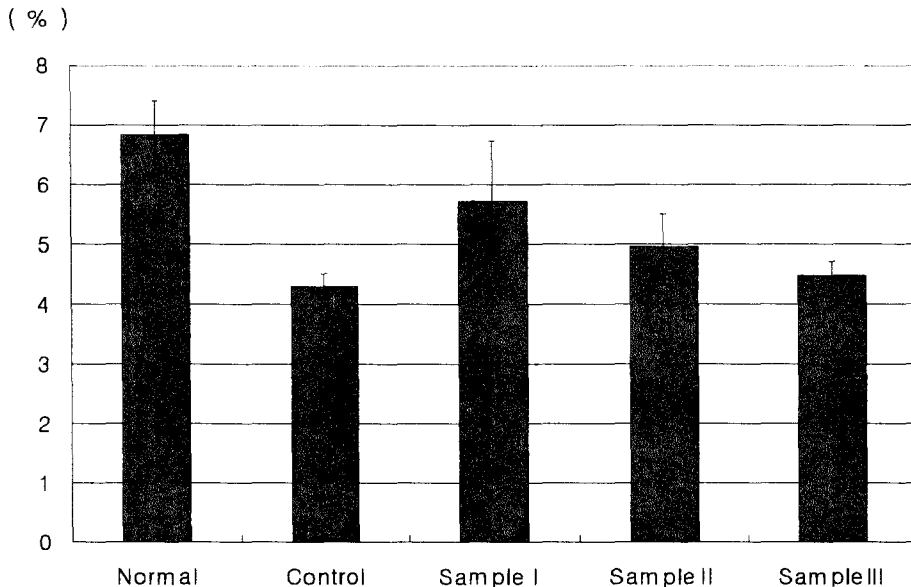


Fig. 12-1 Effect of Cervus elaphus Linne' extract on the NK cell activity with effector/target cell ratio at 2.5 : 1 in melanoma-induced mice.

2) 作動細胞 對 標的細胞의 比가 5:1 인 경우
 正常群이 $11.96 \pm 2.14\%$, 對照群이 $6.72 \pm 0.43\%$,
 實驗群 I 은 $10.70 \pm 0.96\%$, 實驗群 II 는 $10.58 \pm 0.43\%$,
 實驗群 III 은 $7.73 \pm 1.13\%$ 로 나타났다.
 實驗群間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위
 한 Duncan 多衆比較에서 對照群은 正常群에 比하여

有意한 減少를 나타내었으며, 對照群과 實驗群間의
 比較에서는 實驗群 I, II가 對照群에 比하여 有意한
 차이가 인정되었고, 實驗群 III에서는 차이가 인정되었
 으며, 實驗群 各 群間의 比較에서는 實驗群 I, II가
 實驗群 III에 比하여 차이가 인정되었다.(Table XII-2,
 Fig. 12-2)

Table XII-2. Effect of Cervus elaphus Linne' extract on the NK cell Activity with Effector/Target cell Ratio at 5 : 1 in Melanoma-induced Mice.

Group	No. of animal	NK cell activity(%)	Duncan Grouping
Normal	6	$11.96 \pm 2.14^*$	C**
Control	6	6.72 ± 0.43	A
Sample I	6	10.70 ± 0.96	BC
Sample II	6	10.58 ± 0.43	BC
Sample III	6	7.73 ± 1.13	AB
F-value		3.423	

* Mean \pm Standard error of 6 mice

** The same letters are not significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan test.

Normal : Untreated group

Control : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with normal saline in this group.

Sample I : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with upper part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample II : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with middle part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample III : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with lower part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

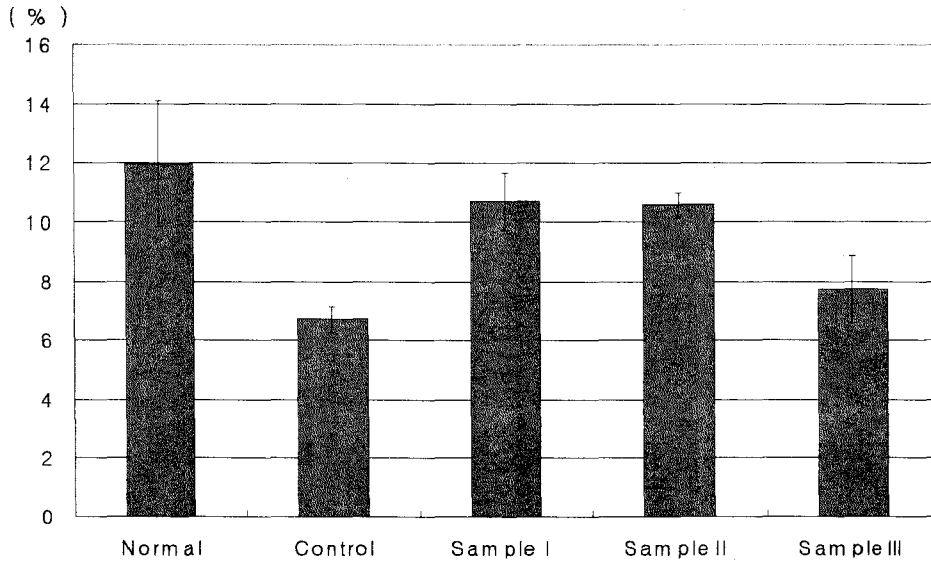


Fig. 12-2 Effect of Cervus elaphus Linne' extract on the NK cell activity with effector/target cell ratio at 5 : 1 in melanoma-induced mice.

3) 作動細胞 對 標的細胞의 比가 10:1인 경우
 正常群이 19.40±4.68%, 對照群이 11.86±1.05%,
 實驗群 I은 13.75±1.27%, 實驗群 II는 13.13±
 0.56%, 實驗群 III은 12.36±1.44%로 나타났다.

實驗群間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위
 하여 Duncan 檢定法으로 分散分析한 結果 F-value는
 1.713으로 統計學的인 有意性이 認定되지 않았
 다.(Table XII-3, Fig. 12-3)

Table XII-3. Effect of Cervus elaphus Linne' Extract on the NK cell Activity with Effector/Target cell ratio at 10 : 1 in Melanoma-induced Mice.

Group	No. of animal	NK cell activity(%)	Duncan Grouping
Normal	6	19.40±4.68*	B**
Control	6	11.86±1.05	A
Sample I	6	13.75±1.27	AB
Sample II	6	13.13±0.56	AB
Sample III	6	12.36±1.44	AB
F-value		1.713	

* Mean \pm Standard Error of 6 mice

** The same letters are not significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan test.

Normal : Untreated group

Control : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with normal saline for 0.2cc/14days in this group.

Sample I : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with upper part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample II : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with middle part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

Sample III : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1\text{ml}$) and treated with lower part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14days in this group.

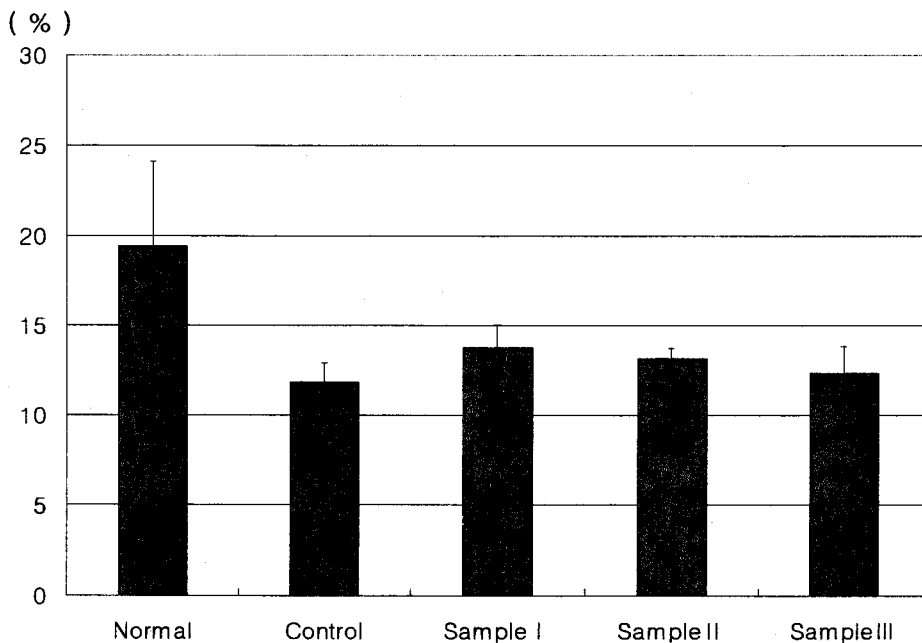


Fig. 12-3 Effect of Cervus elaphus Linne' extract on the NK cell activity with effector/target cell ratio at 10 : 1 in melanoma-induced mice.

13. IL-2 生産能에 미치는 影響

正常群이 $3.46 \pm 0.09 \text{ ng/ml}$, 對照群이 $2.09 \pm 0.09 \text{ ng/ml}$, 實驗群 I 은 $4.28 \pm 0.44 \text{ pg/ml}$, 實驗群 II 는 $3.43 \pm 0.14 \text{ pg/ml}$, 實驗群 III 은 $2.66 \pm 0.09 \text{ pg/ml}$ 으로 나타났다.

實驗群間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위

한 Duncan 多衆比較에서 對照群은 正常群에 비하여 有意한 減少를 나타내었으며, 對照群과 實驗群間的 비교에서는 實驗群 I, II, III이 對照群에 비하여 有意한 차이가 인정되었으며, 實驗群 各 群間的 비교에서는 實驗群 I, II, III에서 각각 有意한 차이가 인정되었다.(Table XIII, Fig. 13)

Table XIII . Effect of Cervus elaphus Linne' Extract on the IL-2 Productivity in Melanoma-induced Mice.

Group	No. of animal	IL-2 concentration(pg/ml)	Duncan Grouping
Normal	6	$3.46 \pm 0.09^*$	C**
Control	6	2.09 ± 0.09	A
Sample I	6	4.28 ± 0.44	D
Sample II	6	3.43 ± 0.14	C
Sample III	6	2.66 ± 0.09	B
F-value		76.519	

* Mean \pm Standard error of 6 mice

** The same letters are not significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan test.

Normal : Untreated group

Control : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1 \text{ ml}$) and treated with normal saline for 0.2cc/14days in this group.

Sample I : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1 \text{ ml}$) and treated with upper part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14day in this group.

Sample II : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1 \text{ ml}$) and treated with middle part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14day in this group.

Sample III : Melanoma was induced by B16BL/6 cell injection($1 \times 10^6/0.1 \text{ ml}$) and treated with lower part of Cervus elaphus Linne' extract for 0.2cc/14day in this group.

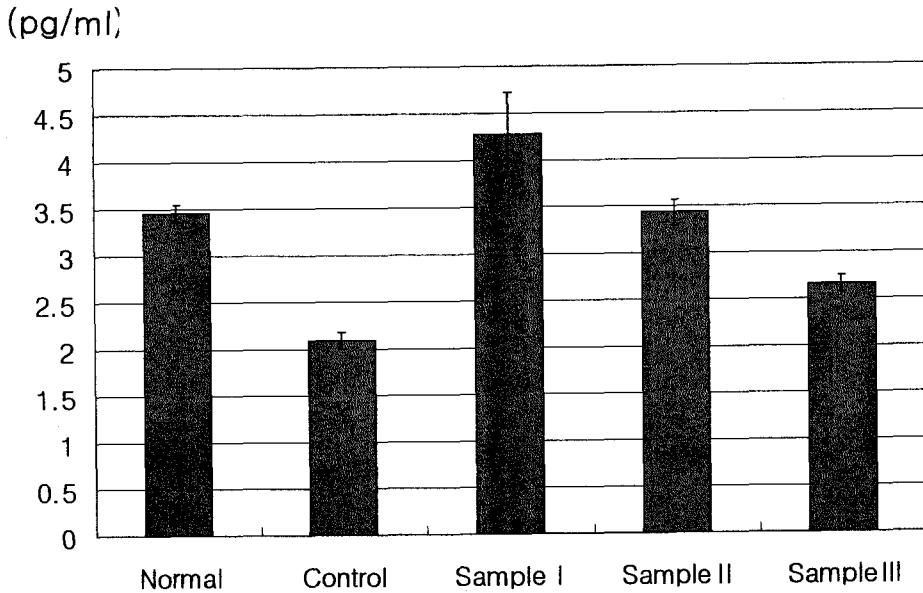


Fig. 13 Effect of Cervus elaphus Linne' extract on the IL-2 productivity in melanoma-induced mice.

IV. 考察

腫瘍의 發生原因과 기전은 아직까지 명백히 밝혀져 있지 않고 그 生物學的 性狀이 복잡하기 때문에 適切한 定義를 내리기는 어려우나 一般的으로 病理學에서 규정한 腫瘍은 一種의 組織의 過乘的 成長을 總稱하는 것으로 正常的인 成長과는 달리 獨立的으로 자라나서 周圍組織을 侵潤하고 다른 組織으로 轉移하는 특징을 가진다.^{8,12,41)}

小兒期의 惡性腫瘍은 成人에 비하여 發生頻도가 낮으나 小兒 疾病 死亡의 가장 흔한 原因이 되며, 발생 빈도는 小兒 10만명당 매년 약 14명으로 急性 白血病이 30-40%를 차지하고, 2位의 發生頻도를 차지하고 있는 것은 腦腫瘍이다. 小兒 惡性 腫瘍의 發生

原因은 아직 규명되지 않았으나 대부분의 경우에서 遺傳學的인 要因과 함께 다양한 物理的 要因, 化學物質 및 微生物 感染 등의 環境的 要因이 關여하는 것으로 알려져 있으며, 흔히 발생하는 癌의 症狀으로는 發熱, 림프절 종대, 복부 종괴, 종격동 종괴, 뼈의 통증, 범혈구 감소증, 출혈, 아침에 심한 頭痛과 嘔吐 등이 있으나 때로 경미하거나 비특이적이어서 다른 疾患으로 誤認되는 경우도 있다.²³⁾

韓醫學에서 腫瘍의 範疇에 屬하는 疾病은 胃·食道部位의 腫瘍을 의미하는 噎膈, 反胃와 腹部의 腫瘍을 포함하는 積聚, 癥瘕, 子宮과 卵巢의 腫瘍을 의미하는 痰癖, 腸覃 및 體表의 惡性 腫瘍이나 黑色腫 등을 의미하는 黑疔, 青疔, 翻花瘡 등이 있다.^{37,39,43,44,48)}

腫瘍의 原因에 대하여 「黃帝內經」⁴²⁾에서 “무릇

七情六鬱之犯과 食勞動之傷이 痰凝氣聚에 이르러 血築成積한다.”하고 「景岳全書」⁴⁵⁾에서 “風寒外感之邪가 또한 能히 積을 이룬다.” 하였으므로 韓醫學에서 腫瘍은 外感六淫, 七情內傷, 飲食不節, 虛勞 등에 의하여 個體의 臟腑機能과 氣血이 失調되고 氣滯血瘀, 痰結濕聚, 熱毒蘊結, 正氣虛弱, 經絡瘀阻 등의 病理變化가 單獨 혹은 相互錯雜하여 나타나는 慢性的인 疾患으로 이해할 수 있다.^{9,19)}

西醫學의 腫瘍의 發生은 生體內 正常細胞가 發癌物質 등의 環境의 要因과 바이러스감염, 遺傳的 要因, 慢性刺戟 및 突然變異 등에 의하여 腫瘍細胞로 형성되어 자라는데, 이는 人體의 免疫能力이 低下된 狀態에서 細胞調節機能을 잃고 增殖하게 되는 것으로^{8,54)} 疾病의 發生과 發展過程을 “邪氣交爭” “邪氣相合則病作” “正邪分爭”이라 하여 邪正相爭의 過程으로 認識하는 韓醫學的 疾病觀과 附合되는 점이 있다.

正氣는 人體가 邪氣의 侵犯에 抵抗하고 正常的인 活動을 維持하게 하는 能力을 總稱하는 것으로^{5,18)} 正氣의 虛弱은 모든 疾病을 일으키는 重要的 內的 條件이며 疾病의 發生發展의 關鍵이 된다.

「素問 刺法論」에 “正氣存內 邪不可干”이라 하고 「素問 評熱病論」에 “邪氣所湊 其氣必虛”라 한것은²²⁾ 外邪가 疾病發生에 重要的 條件이지만 各 臟腑機能의 失調, 즉 正氣의 虛實이 疾病發生의 基本要件이 되고 있음을 보여준다.

그러므로 韓醫學的 治療法은 有機體의 抗病力을 調節하고 免疫機能을 높이며 免疫能을 破壞하는 要素를 排除하므로써 人體의 陰陽失調를 平衡케 하며 調和하여 正常的인 生命現象을 維持하게 하는 扶正祛邪의 原則에 따르며, 扶正의 方法으로 益氣健脾, 滋陰補血, 溫補脾胃^{31,34,49,51,53)} 등과 祛邪의 方法으로 活血祛瘀, 清熱解毒, 軟堅化痰^{48,52)} 등이 많이 活用되고 있

다.

西醫學에서 腫瘍治療法으로는 手術, 放射線, 化學 및 免疫療法 등이 주로 活用되고 있으며, 腫瘍의 發生과 免疫機能은 밀접한 관계가 있다.^{3,10,12,14,46,50)}

最近 韓醫學系에서도 腫瘍治療의 限界를 克復하기 위하여 扶正祛邪法과 扶正培本法을 活用하여 抗癌劑와 韓藥을 併用 投與함으로써 治療效果를 높이고 化學療法의 副作用이나 毒性作用, 放射線治療時 發生하는 重大한 損傷을 減少시킬 수 있다는 여러 보고^{24,35,36,38)} 들이 발표되고 있다.

鹿茸은 「神農本草經」⁴⁰⁾에 “味甘溫, 無毒, 治漏下惡血, 惡熱驚癇, 益氣強志, 生齒不老”라고 最初로 記錄된 以後로 肝腎經으로 歸經하여 壯腎陽, 補氣血, 益精血, 強筋骨, 調衝任 등의 效果가 있어 虛勞羸瘦, 畏寒無力, 精神倦乏, 血虛眩暈, 腰膝痿軟, 腰脊痛 小便數利 등의 一切虛損症候에 널리 使用되고 있으며 小兒의 發育不全과 齒遲 및 行遲에 活用되고 있다.^{1,13)} 臨床的으로는 小兒의 補劑에 널리 使用되어져 왔으며 특히 部位別로 上帶 部位가 小兒에게 多用되고 있다.

鹿茸은 회분율 25%이하를 기준으로 정하여 藥材로 사용하고 있으며, 上帶, 中帶 및 下帶로 分類하는 方法은 國內에서만 통용되고 있는 方法으로 아직 鹿茸의 등급판정에 관한 문서화된 規定이 없는 실정이다.

本 實驗에 使用된 鹿茸은 러시아產 元茸으로 기원 동물인 馬鹿의 세로 절편을 보면 끝 부위는 옅은 황색이며, 中間의 대부분은 자적색, 아랫부분은 회백색을 나타낸다.^{17,21)} 이를 기준으로 회분율 25%이하의 鹿茸中 各질화 정도와 색깔을 기준으로 上帶, 中帶 및 下帶로 分類하였다.

鹿茸이 腫瘍抑制과 免疫機能에 미치는 影響에 관

한 연구는 高²⁴⁾의 '鹿茸, 熟地黃, 人蔘, 五加皮가 免疫機能 및 NK cell 活性에 미치는 影響', 金²⁶⁾의 '歸茸湯이 免疫機能에 미치는 實驗的 研究'와 張³³⁾의 '蔘茸湯이 S-180에 대한 抗腫瘍效果와 cyclophosphamide에 의한 副作用 減少에 미치는 影響' 등이 있었으며, 鹿茸의 種類에 따른 高²⁵⁾의 '四種 鹿茸의 免疫學的 效能에 關한 實驗的 研究'에서 有效한 效果가 있음이 觀察되었으나 部位別 鹿茸의 效能에 關한 研究는 이루어지지 않았다.

이에 著者는 鹿茸이 部位別로 腫瘍抑制와 免疫機能에 어떠한 影響을 미치는지 觀察하기 위하여 C57BL/6系 생쥐의 귀 표면에서 自然 發生된 黑色腫에서 由來하여 人爲的인 轉移癌 發生 實驗에 많이 利用되고 있는 B16BL/6 黑色腫 細胞柱⁵⁸⁾를 使用하여 黑色腫 誘發 생쥐에서 血液과 脾臟內의 淋巴球數, CD4+ T細胞率, CD8+ T細胞率, CD4+/CD8+ T cell ratio, 脾臟指數, 體重變化, 黑色腫 무게, NK cell 活性度, IL-2 生産能 등의 變化를 測定하였다.

後天性 免疫反應은 淋巴球가 主體가 되는데, 抗原이 體內로 들어올 때 抗原刺戟에 의해 抗體가 만들어지는 免疫反應을 抗體媒介免疫 또는 體液性 免疫이라 하고, 抗原刺戟을 받은 T淋巴球나 T淋巴球가 만들어낸 여러 蛋白들에 의한 免疫反應을 細胞媒介免疫 또는 細胞性 免疫이라 한다.^{10,11,15)}

腫瘍細胞의 成長抑制에 대한 免疫反應은 體液性 免疫보다는 細胞性 免疫反應이 더 重要한 役割을 하는데⁷⁾ 細胞媒介免疫反應은 T淋巴球가 主體가 되어 抗原을 가진 細胞와 特異反應을 하며, T淋巴球가 生産한 cytokine이 大食細胞, 그리고 NK cell을 活性化하여 細胞內寄生微生物 또는 癌細胞를 破壞하는 反應⁴⁾을 하므로 鹿茸이 血液과 脾臟에서 淋巴球와 T細胞 淋巴球에 어떠한 影響을 미치는지 관찰하였다.

淋巴球數는 血液內에서 對照群과 實驗群 및 實驗群間의 比較에서는 有意한 차이가 없었으나, 脾臟內에서는 鹿茸 上帶 投與群과 中帶 投與群이 對照群과 鹿茸 下帶 投與群에 비하여 有意한 차이가 인정되었다.

T細胞淋巴球는 免疫促進作用을 하는 補助 T淋巴球, 免疫抑制役割을 하는 抑制 T淋巴球, 細胞毒性作用을 하는 細胞毒性 T淋巴球, 遲延型過敏免疫反應 T淋巴球로 構成된다.

CD4+ T淋巴球는 補助 T淋巴球로서, 여러 종류의 cytokine을 生産하여 B淋巴球가 效率的으로 抗體를 生産하도록 도와주며, 細胞媒介免疫反應의 行動細胞인 細胞毒性 T淋巴球가 잘 생기도록 도와주는 등의 免疫機能을 補助하는 役割을 擔當한다.^{2,4,11,15,16,27)} 最近의 많은 研究들에 따르면 免疫能力이 떨어진 狀態에서는 血液에서 얻은 標本의 細胞數가 줄어들어 있다고 하여 이 計測이 免疫能力의 低下와 그에 따른 治療藥物 投與與否나 治療時期를 결정하는 가능자로 사용할 가치가 있다고 認定되고 있다.^{59,60)}

CD4+ T細胞率에 關하여 살펴보면 血液內에서 鹿茸 上帶, 中帶 및 下帶 投與群 모두에서 對照群에 비하여 차이가 인정되었으며 實驗群間의 比較에서는 有意한 차이가 없었으나, 脾臟內에서는 鹿茸 上帶 投與群이 對照群에 비하여 차이가 인정되었으며 鹿茸 中帶, 下帶 投與群은 有意한 차이가 인정되었고, 實驗群間의 比較에서도 鹿茸 中帶, 下帶 投與群이 上帶 投與群에 비하여 차이가 인정되었다.

CD8+ T淋巴球는 細胞毒性 T淋巴球로서 標的이 되는 細胞와 직접 接觸하여 細胞毒性 蛋白質을 分泌하는 기전으로 標的細胞를 破壞하여 바이러스 및 특정세균에 의한 感染이나 惡性腫瘍으로부터 身體를 保護해주는 機能을 한다.^{2,4,11,16,27)}

CD8+ T細胞率에 관하여 살펴보면 血液內에서는 實驗群間 차이가 認定되지 않았으나, 脾臟內에서는 鹿茸 上帶, 中帶 및 下帶 投與群이 對照群에 비하여 有意한 차이가 인정되었으며, 實驗群間的 비교에서는 有意한 차이가 없었다.

CD4+/CD8+ T cell ratio에 관하여 살펴보면 血液에서는 鹿茸 上帶 投與群이 對照群에 비하여 有意한 차이가 인정되었고, 鹿茸 中帶와 下帶 投與群은 對照群에 비하여 차이가 인정되었으며, 實驗群間的 비교에서도 鹿茸 上帶 投與群이 中帶와 下帶 投與群에 비하여 차이가 인정되었다. 脾臟內에서는 鹿茸 上帶, 中帶 및 下帶 投與群이 對照群에 비하여 有意한 차이가 인정되었으며, 實驗群間的 비교에서는 鹿茸 上帶 投與群이 中帶와 下帶 投與群에 비하여 차이가 인정되었다.

脾臟指數에 관하여 살펴보면 對照群과 實驗群間的 비교에서는 鹿茸 上帶, 中帶 投與群이 對照群과 鹿茸 下帶 投與群에 비하여 有意한 차이가 인정되었으며, 實驗群間的 비교에서도 鹿茸 上帶와 中帶 投與群이 下帶 投與群에 비하여 有意한 차이가 인정되었다.

이것으로 鹿茸이 脾臟機能에 影響을 주어 血液보다는 脾臟內에서 淋巴球와 CD4+ T細胞의 增加 및 CD8+ T細胞의 增加 抑制에 效果를 나타내는 것으로 생각되며, 鹿茸 上帶, 中帶 投與群이 下帶 投與群에 비하여 有意한 效果를 나타내는 것으로 思料된다.

鹿茸이 黑色腫 誘發로 인한 體重減少와 黑色腫의 增殖에 미치는 影響에 관하여 알아보기 위하여 體重의 變化와 黑色腫의 무게를 測定한 結果, 體重의 變化에서는 鹿茸 上帶, 中帶 및 下帶 投與群이 對照群에 비하여 有意한 차이가 인정되었으며, 實驗群間的 비교에서는 鹿茸 上帶, 中帶 投與群이 下帶 投與群에 비하여 有意한 차이가 인정되었다.

黑色腫의 무게에서는 鹿茸 上帶, 中帶 및 下帶 投與群 모두에서 對照群에 비하여 有意한 차이가 인정되었으며, 實驗群間的 비교에서는 鹿茸 上帶, 中帶 投與群이 下帶 投與群에 비하여 有意한 차이가 인정되었다.

이 사실로서 鹿茸의 上帶와 中帶가 腫瘍의 成長을 抑制하는 效能을 가지는 것으로 판단되며 腫瘍의 成長抑制로 因하여 體重減少의 抑制도 함께 나타난 것으로 생각된다.

NK cell은 非特異免疫反應에 關與하는 細胞中 하나로서 標的細胞를 破壞하는 機轉에 對해서는 아직 확실히 밝혀지지 않았지만 標的細胞와의 接觸, 致命的 攻擊 및 融解에 의해서 이루어지며³⁰⁾, 生體의 腫瘍에 대한 免疫監視 機轉에 있어서 第 1 線을 담당하고 있는 作動細胞의 하나로 暗示되고 있다.²⁹⁾

NK cell 活性度は 그 數에 의해서가 아니라 標的細胞와의 結合能力, 結合된 標的細胞의 傷害能力 및 한 개의 作動細胞가 몇 개의 標的細胞를 傷害시킬 수 있는가에 따라 左右된다.³²⁾

鹿茸이 NK cell의 活性도에 미치는 影響을 알아보기 위하여 作動細胞 對 標的細胞의 比가 2.5 : 1인 경우, 5 : 1인 경우, 10 : 1인 경우를 측정한 결과, 2.5 : 1인 경우에서는 鹿茸 上帶 投與群에서 對照群과 鹿茸 中帶와 下帶 投與群에 비하여 차이가 인정되었으며, 5 : 1인 경우에서는 鹿茸 上帶와 中帶 投與群에서 對照群에 비하여 有意한 차이가 인정되었고 鹿茸 下帶 投與群에서는 차이가 인정되었으나, 10 : 1인 경우는 實驗群間 差異가 認定되지 않았다. 이는 鹿茸이 NK cell 活性度を 增加시킨다는 高^{24,25)}의 報告와 一致하는 것이나 作動細胞 對 標的細胞의 比를 各各 高²⁵⁾는 50:1과 100:1, 高²⁴⁾는 20:1과 40:1로 定하여 觀察하였으므로 同一한 條件에서의 觀察이 필

요할 것으로 생각된다.

IL-2는 T 림구 증식인자로서 T림구의 성장, B 세포의 분화인자유도 및 세포독성 T림구, NK cell, LAK세포 및 거식세포 등의 증식 및 활성에 관여하여 個體內에서 免疫反應의 中心的인 役割을 하는 것으로 알려져 있다.^{20,62)}

IL-2 生産能에 미치는 效果에 關하여 살펴보면 鹿茸 上帶, 中帶 및 下帶 投與群 모두에서 對照群에 比하여 有意한 差이가 인정되었으며, 實驗群間의 比較에서는 鹿茸 上帶, 中帶 및 下帶 投與群 모두에서 各 有意한 差이가 認定되었으며 鹿茸 上帶 投與群, 中帶 投與群 및 下帶 投與群 順으로 有意한 效果가 높게 나타났다.

以上の 實驗結果로 미루어 보아 鹿茸이 腫瘍抑制와 免疫增強效果에 影響을 미치는 것으로 생각되며 鹿茸 上帶와 中帶 投與群이 鹿茸 下帶 投與群에 比하여 有意한 效果를 주는 것으로 보여진다.

尙後 이에 대한 보다 進진된 研究가 必要할 것으로 생각된다.

V. 結論

鹿茸의 部位에 따라 腫瘍抑制와 免疫反應에 미치는 效果를 觀察하기 위하여 생쥐에서 黑色腫을 誘發한 後 血液과 脾臟內의 淋구數, CD4+ T細胞率, CD8+ T細胞率, CD4+/CD8+ T cell ratio, 脾臟指數, 體重變化, 黑色腫 무게, NK cell 活性度, IL-2 生産能 등의 變化를 測定하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 淋구數는 血液內에서 對照群과 實驗群 및 實驗

群間의 比較에서는 有意한 差이가 없었으나, 脾臟內에서는 鹿茸 上帶 投與群과 中帶 投與群이 對照群과 下帶 投與群에 比하여 有意한 差이가 인정되었다.

2. CD4+ T細胞率은 血液內에서 鹿茸 上帶, 中帶 및 下帶 投與群 모두에서 對照群에 比하여 差이가 인정되었으며 實驗群間의 比較에서는 有意한 差이가 없었으나, 脾臟內에서는 鹿茸 上帶 投與群이 對照群에 比하여 差이가 인정되었으며 鹿茸 中帶, 下帶 投與群은 有意한 差이가 인정되었고, 實驗群間의 比較에서도 鹿茸 中帶, 下帶 投與群이 上帶 投與群에 比하여 差이가 인정되었다.

3. CD8+ T細胞率은 血液內에서는 實驗群間 差이가 認定되지 않았으나, 脾臟內에서는 鹿茸 上帶, 中帶 및 下帶 投與群이 對照群에 比하여 有意한 差이가 인정되었으며, 實驗群間의 比較에서는 有意한 差이가 없었다.

4. CD4+/CD8+ T cell ratio는 血液에서는 鹿茸 上帶 投與群이 對照群에 比하여 有意한 差이가 인정되었고, 鹿茸 中帶와 下帶 投與群은 對照群에 比하여 差이가 인정되었으며, 實驗群間의 比較에서도 鹿茸 上帶 投與群이 中帶와 下帶 投與群에 比하여 差이가 인정되었다. 脾臟內에서는 鹿茸 上帶, 中帶 및 下帶 投與群이 對照群에 比하여 有意한 差이가 인정되었으며, 實驗群間의 比較에서는 鹿茸 上帶 投與群이 中帶와 下帶 投與群에 比하여 差이가 인정되었다.

5. 脾臟指數에 關하여 살펴보면 對照群과 實驗群間

의 비교에서는 鹿茸 上帶, 中帶 投與群이 對照群과 鹿茸 下帶 投與群에 비하여 有意한 차이가 인정되었으며, 實驗群間의 비교에서도 鹿茸 上帶와 中帶 投與群이 下帶 投與群에 비하여 有意한 차이가 인정되었다.

6. 體重의 變化와 黑色腫의 무게에서는 鹿茸 上帶, 中帶 및 下帶 投與群이 對照群에 비하여 有意한 차이가 인정되었으며, 實驗群間의 비교에서는 鹿茸 上帶, 中帶 投與群이 下帶 投與群에 비하여 有意한 차이가 인정되었다.
7. NK cell 活性도는 作動細胞 對 標的細胞의 比가 2.5 : 1인 경우는 鹿茸 上帶 投與群에서 對照群과 鹿茸 中帶와 下帶 投與群에 비하여 차이가 인정되었으며, 5 : 1인 경우는 鹿茸 上帶와 中帶 投與群에서 對照群에 비하여 有意한 차이가 인정되었고 鹿茸 下帶 投與群에서는 차이가 인정되었으나, 10 : 1인 경우는 實驗群間 差異가 認定되지 않았다.
8. IL-2 生産能에 미치는 效果는 鹿茸 上帶, 中帶 및 下帶 投與群에서 對照群에 비하여 有意한 차이가 인정되었으며, 實驗群間의 비교에서는 鹿茸 上帶, 中帶 및 下帶 投與群 모두에서 각각 有意한 차이가 認定되었으며 鹿茸 上帶 投與群, 中帶 投與群 및 下帶 投與群 순으로 有意한 效果가 높게 나타났다.

參考文獻

1. 李尙仁 外 : 本草學, 서울, 永林社, 1991, pp.545-546.
2. 권명상 : 臨床 免疫學, 서울, 고려의학, 1998, pp.117, 135-140.
3. 김민영 外 : 癌研究의 最新指見, 서울, 암연구센터, 1993, pp.307-321.
4. 김세종 : 면역학, 서울, 고려의학, 1994, p.5, 7,120, pp.24-35, 134-136.
5. 金完熙, 金廣中 : 韓醫學의 形成과 體系, 서울, 中文出版社, 1991, p.70, pp.216-219.
6. 김정순 : 免疫原論, 서울, 신광출판사, 1990, pp. 233-254.
7. 김진복 : 最新外科學, 서울, 一潮閣, 1995, pp. 474-538.
8. 대한병리학회 : 병리학, 서울, 고문사, 1994, p.584, pp.231-258.
9. 文濬典 外 : 東醫病理學, 서울, 高文社, 1990, pp.78-90.
10. 박재갑 : 人間생명과학, 서울, 서울대학교 출판부, 1994, pp.662-673.
11. 서울대학교 의과대학 : 면역학, 서울, 서울대학교 출판부, 1992, p.77, pp.12-27, 303-311, 337-351.
12. 서울대학교 의과대학 : 腫瘍學, 서울, 서울대학교 출판부, 1996, p.1,3, 27,36,91,99, pp.137-192.
13. 辛民敎 : 臨床本草學, 서울, 永林出版社, 1989, pp.183-184.
14. 李文鎬 外 : 內科學, 서울, 박애출판사, 1976, pp.2446-2450,2466-2475.
15. 李淵台譯 : 最新 免疫學, 서울, 集文堂, 1993, p.33, 52, 68, 335.
16. 정태호 : 면역학 강의, 대구, 경북대학교 출판부, 1993, pp.2-9, 294-303.

17. 지형준, 이상인 : 대한약전의 한약(생약)규격집 주해서, 서울, 한국메디칼인덱스사, 1988, p.103
18. 崔昇勳 : 韓方病理學, 서울, 一中社, 1997, pp.104-108.
19. 崔昇勳 : 東醫腫瘍學, 서울, 杏林出版, 1995, pp.32-41, 72-92.
20. 하대유 : 면역학, 서울, 고문사, 1994, p.102.
21. 韓大錫 外 : 鹿茸, 서울, 서울대학교 약학대학, pp. 19-25.
22. 洪元植 : 精校黃帝內經素問, 서울, 東洋醫學研究院出版部, 1981, p.11, 20, 34, 124, 285.
23. 홍창의 : 소아과학, 서울, 대한교과서주식회사, 1997, pp.893-895.
24. 高炳熙 外 : 鹿茸 熟地黃, 人蔘 五加皮가 免疫反應과 NK細胞 毒性에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 1986, 7(2):157-171.
25. 高炳熙 外 : 四種 鹿茸의 免疫學的 效能에 關한 實驗的 研究, 大韓韓醫學會誌, 1991, 12(1):187-202.
26. 金德鎬 外 : 歸茸湯이 免疫反應에 미치는 實驗的 研究, 大韓韓醫學會誌, 1985, 6(2):55-63.
27. 金美志 外 : 補中益氣湯이 Lymphocyte와 CD4+ T cell에 미치는 影響, 大韓韓方小兒科學會誌, 1998, 12(1):211-229.
28. 안돈희 : 한국인의 사망원인, 대한의학협회지, 1993, 36(3):292-299.
29. 윤정구 : 종양에 대한 생체방어기전, 대한의학협회지, 1989, 32(10):1073-1077.
30. 윤정구 : 종양과 Natural Killer(NK)세포에 대하여, 암학술지, 1983, 5(1):15-21.
31. 李承蓮 外 : 金瑋顯, 蔘出健脾湯이 흰쥐의 免疫反應에 미치는 影響, 大韓韓方小兒科學會誌, 1998, 12(1):257-276.
32. 임수덕 외 : 인터페론 Alpha, Gamma 존재하에 NK cell이 암세포파괴에 미치는 영향에 대한 연구, 대한암학회지, 1983, 15(1):1-13.
33. 張中植 外 : 蔘茸湯이 S-180에 대한 抗腫瘍效果와 cyclophosphamide에 의한 副作用減少에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 1992, 13(1):313-323.
34. 丁俊宅 外 : 陳荅湯加減方의 抗腫瘍效果에 關한 實驗的 研究, 大韓韓方腫瘍學會紙, 1998, 4(1):37-53.
35. 趙成基 外 : 消積白朮散의 抗癌 免疫增強效果 및 cisplatin의 腎臟毒性抑制에 미치는 影響에 關한 研究, 大韓韓醫學會誌, 1993, 14(2):281-309.
36. 蔡禹錫 : 免疫疾患의 韓方概念과 治療에 關한 文獻的 考察, 大韓韓醫學會誌, 1990, 11(2):54-89.
37. 최승훈 : 한의학의 종양에 대한 인식론과 병리론, 大韓韓方腫瘍學會紙, 1995, 1(1):11-26.
38. 韓相日 外 : 痞氣丸이 白血病과 淋巴腫 患者에서 抽出한 癌細胞에 미치는 抗癌效果, 大韓韓方內科學會誌, 1992, 12(2):1-11.
39. 賈 旁 : 癌瘤中醫防治研究, 陝西, 陝西科學技術出版社, 1983, pp.1-3.
40. 孫星衍撰 : 神農本草經, 臺北, 集文書局, 1976, 一卷, p.12, 13, 40, 二卷, p.27.
41. 方藥中 外 : 實用中醫內科學, 上海, 上海科學技術出版社, 1986, p.621, 623, pp.630-631.
42. 王 冰 : 黃帝內經素問, 서울, 高文社, 1977, p.91, 166, 229, 326.
43. 郁仁存 : 中醫腫瘤學, 北京, 北京科學出版社, 1983, pp.1-11.
44. 李 梈 : 醫學入門, 서울, 翰成社, 1982, p.358.

- 390.
45. 張介賓 : 景岳全書, 서울, 大星文化社, 1988, p.479.
46. 張代釗 : 中西醫結合治療癌證, 山西, 山西人民出版社, 1984, pp.11-19.
47. 錢伯文 : 腫瘤的辨證施治, 上海, 上海科學技術出版社, 1980, pp.1-10.
48. 鄧有安 外 : 活血化瘀中藥加抗癌藥治療急性白血病患者近期療效觀察, 中西醫結合雜誌, 1988, 8(11): 683.
49. 潘明繼 外 : 扶正健脾湯辨證加減方治534例癌症化療副反應的觀察, 中西醫結合雜誌, 1991, 11(4):233-234.
50. 厲 暢 : 癌의 中醫治療, 서울, 東洋醫學, 1992, 18(1):56-63.
51. 殷紹瑾 外 : 脾腎方對 L1210腹水癌小鼠的免疫調節作用, 中西醫結合雜誌, 1990, 10(7):426-428.
52. 陳健民 : 癌症患者血液高粘狀態與活血化瘀治療, 中西醫結合雜誌, 1985, 5(2):89-90.
53. 胡濱袁 : 中醫健脾理氣法爲主合并阿微素治療晚期原發性肝癌, 中西醫結合雜誌, p.746, 1990
54. Avrames, S. et al : Antibody formation at the cellular level in immunity, New York, John Wiley and Son's Inc. 1982, pp.503-513, 3930-3945.
55. Brander, C. et al : Carrier-mediated uptake and presentation of a major histocompatibility complex class I-restricted peptide, Eur. J. Immunol., 1993, 23:3217-3223.
56. Decker, T. et al : A quick and simple method for the quantitation of lactate dehydrogenase release in measurements of cellular cytotoxicity and tumor necrosis factor(TNF) activity, J. Immunol. Methods, 1988, 15:61-69.
57. Gullberg, M. and Larsson, E.L. : Studies on induction and effector function of concanavalin A-induced suppressor cells that limit TCGF production, J. Immunol., 1982, 128(2): 746-750.
58. Ishokawa, M., Hosokawa, M., Oh-hara, N., et al : Marked granulocytosis in C57BL/6 mice bearing a transplanted BMT-11 fibrosarcoma, J. Natl. Cancer Inst. 1987, 78:567-571.
59. Kalmar, J.R. et al. : Superior leucocyte separation with a discontinuous one-step Ficoll-Hypaque gradient for the isolation of human neutrophils. J. Immunol. Meth., 1988, 110:275-281.
60. Karina M. Butler et al. : CD4 Status and P24 Antigenemia. AJDC. 1992, 146:932-936.
61. Korzeniewski, C. and Callewaert, D.M. : An Enzyme-Release Assay for Natural Cytotoxicity, J. Immunol. Methods, 1983, 64:313-320.
62. Ulrich Keinholtz, Carman Scheibenbogen, et al. : Interferon- α and Interleukin-2 in the Treatment of Metastatic Melanoma, Cancer, 1993, 72(2):607-614.