

일부 한약재의 동종항원에 대한 세포증식 및 살세포반응 억제효과

정영란 · 하미혜* · 김성호** · 조성기*** · 변명우*** · 조현욱 · 서권일**** · 이성태†

순천대학교 생물학과, *유용천연자원연구소

전남대 수의학과, *원자력연구소 방사선식품생명공학팀

****순천대학교 식품영양학과

Immunosuppressive Effects of Herbal Plant Extracts on Alloantigen Reactive Cell Proliferation and Cytotoxicity

Young-Ran Jeong, Mee-Hye Ha*, Sung-Ho Kim**, Sung-Kee Jo***
Myung-Woo Byun***, Hyun-Wook Cho, Kwon-Il Seo**** and Sung-Tae Yee†

Dept. of Biology, and *Research Institute of Natural Resource, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

**Dept. of Anatomy, College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea

***Dept. of Food Irradiation, Korea Atomic Energy Research Institute, Taejeon 305-353, Korea

****Dept. of Food and Nutrition, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

Abstract

In this experiment, we showed the immunosuppressive effects of herbal plant extracts on the alloantigen reactive proliferation and cytotoxicity. The extracts of *Angelica gigas*, *Crataegus pinnatifida*, *Houttuynia cordata*, *Acanthopanax sessiliflorum* and *Astragalus membranaceus* markedly suppressed on the proliferation of primary T cells stimulated with allogeneic spleen cells in a dose-dependent manner. The production of IL-2, IFN- γ , IL-4 and IL-10 in the alloreactive primary T cells showed no significant difference in the presence or absence of herbal plants extracts. Also the result of mixed lymphocyte reaction (MLR)-induced cytotoxic T lymphocyte (CTL) showed what is above a certain point 50% inhibition. Specially, the extracts of *Acanthopanax sessiliflorum* and *Astragalus membranaceus* completely suppressed the killing activity of CTL. These results suggest that the extracts of 5 herbal plants can be used as immunosuppressive agents.

Key words: alloantigen, herbal plants, immunosuppression, T cells, cytotoxicity

서 론

이식(transplantation)이란 한 개체로부터 세포와 조직 혹은 기관, 즉 이식편(graft)을 취하여 다른 개체로 전이시키는 과정을 말한다. 유전적으로 동일한 두 개체간의 이식을 동종동형 이식(syngeneic transplantation), 같은 종이지만 유전적으로 서로 다른 두 개체간에 이식을 동종이형 이식(allogenic transplantation)이라 한다(1-3). 동종항원(alloantigen)은 동종 개체간에서 생체 구성물질구조의 유전적 변이가 있을 경우, 이것이 항원 즉 면역학적으로 이물질로 인식되는 것을 말하며, 이식에 있어서 가장 문제가 되는 것이 공여자로부터 받은 이식편에 대한 거부반응이다. 즉, 이식편의 유전자가 수용자의 유전자와 완전히 동일하지 않으면 정도에 따라 빠르게 거부반응이 일어나게 되는데 초급성 거부반응의 경우

이식 후 곧바로 나타나며 주로 체액성 면역반응, 즉 항체에 의한 면역반응이고, 급성 거부반응은 이식 후 수주 내에 발생하며, 주로 세포성 면역반응에 의한 것이다. 만성 거부반응의 경우는 이식 후 수개월이 지나 서서히 나타나며 이 경우도 세포성 면역반응이 주를 이룬다. 따라서 급성 거부반응이나 만성 거부반응의 경우 대부분 치료로 회복될 수 있는데, 치료방법 중 하나가 면역억제제를 사용하는 것이다.

면역억제제(immunosuppressive agents)란 생체내 면역반응을 인위적으로 억제시키는데 사용되는 약물로 장기이식의 거부반응 억제나 교원병 등의 자가 면역성 질환 치료에 사용된다. 즉 장기가 이식되면 우리 몸의 T세포가 이를 감지하여 활성화되면서 IFN- γ 나 IL-2 등을 분비하여 다른 T세포, B세포 등을 활성화시켜 이식된 장기를 파괴하려는 과정이 일어나는데 이 과정을 막아 주는 것이

† To whom all correspondence should be addressed

면역억제제이다. 임상적으로 흔히 사용되는 면역억제제로는 cyclosporine A, azathiopurine(imuran), prednisolone 등이 있다. 그 외에도 FK 506, RATG, OKT3 등 여러 가지 면역억제제가 개발되어 사용되고 있다 이들은 모두 비특이적으로 세포의 DNA-RNA합성 또는 단백질생합성을 저해하는 것으로 면역계 뿐만 아니라 조혈계, 장관상피 등 세포 분열이 왕성한 재생장기 전체를 억제하기 때문에 부작용도 많다(4-6). 그 중에서 cyclosporine A는 진균에서 분리한 순수성 polypeptide로, T세포내의 cyclosporine 결합단백질과 결합하여 calcineurin의 활성을 억제함에 따라서 전사인자의 핵 내로의 이행을 방해하고 그 결과로서 IL-2유전자의 발현이 진행되지 않고 면역이 억제되기 때문에 임상에서 주로 많이 사용되었다(7). 하지만 최근에는 cyclosporine과 유사한 약제로 세제적으로 보급이 확산되고 있는 FK506이 있는데 이것은 같은 동량에서 cyclosporine보다 면역억제강도가 10배 내지 100배정도 효능이 높다고 보고(8-10)되고 있는 것으로 면역억제 효과를 나타내는 혈중 농도의 범위가 상대적으로 넓고 용량 증가가 용이하기 때문에 임상에서 그 사용이 증가하고 있다

이렇듯 최근 이식편에 대한 거부반응을 완화시키거나 완치하기 위하여 많은 면역억제제에 대한 연구가 활발히 진행되어지고 있다. 따라서 예로부터 한방 치료에서 여러 가지 효능을 가지는 것으로 알려진 8가지 한약재, 즉 가자(*Terminoria chebula*), 당귀(*Angelica gigas*), 산사(*Crataegus pinnatifida*), 어성초(*Houttuynia cordata*), 오가피(*Acanthopanax sessiliflorum*), 작약(*Paeonia japonica*), 천궁(*Cnidium officinale*), 황기(*Astragalus membranaceus*)의 추출물을 사용하여 면역억제제로써 이용 가능성을 알아보기 위하여 본 실험을 시행하였다

재료 및 방법

실험동물

실험에 사용된 생쥐(BALB/c, C57BL/6)는 대한실험동물센터(충북 음성군)에서 구입한 생후 8~12주된 암컷을 사용하였다

사용시약

RPMI 1640, antibiotic-antimycotic은 Gibco BRL(USA) 제품을 사용하였으며, FCS(fetal calf serum)은 PAA제품(USA)을 사용하였다. 2-ME(2-mercaptoethanol), sodium bicarbonate(NaHCO_3)는 Sigma(USA) 제품을 사용하였다. 또한 cytotoxicity assay에 사용된 시약(Cyto Tox 96[®] Non-radioactive Cytotoxicity Assay)은 Promega(USA) 제품을 사용하였고, cytokine 측정에 필요한 항체는 Pharmingen(USA) 제품을 사용하였다.

비장세포 분리

생쥐(BALB/c, C57BL/6)를 경추탈골로 희생시킨 뒤 알코올로 소독하여 해부대에 올려놓고 오른쪽 옆구리 쪽을 절개하여 비장을 떼어내었다. 비장은 핀셋을 이용하여 단일세포로 만들어 4°C, 1,200 rpm에서 8분간 3번 원심 침전하는 방법으로 세척하고, 마지막에 10% FCS-RPMI 1640 배지로 희석하여 실험에 사용하였다.

T 세포 분리

분리한 BALB/c의 비장세포를 10% FCS-RPMI 1640 배지 1 mL에 희석하여 Nylon wool column에 넣고 37°C, 5% CO₂ incubator에 60분간 배양한 후, Nylon wool column을 37°C로 미리 데워진 배지로 세척하여 비부착성인 T세포만을 순수 분리하여 동종항원반응 T세포로 사용하였다.

MMC 처리

C57BL/6 생쥐에서 분리한 비장세포를 분리하여 2 mL의 10% FCS-RPMI 1640 배지에 희석하고 200 μL 의 mytomycin C(2 mg/mL)를 첨가하여 37°C water bath에 25분간 처리하였다. 그 다음 RPMI 1640 배지로 4°C, 1,200 rpm에서 8분간 5번 원심 침전을 반복하여 세척한 다음 동종항원 비장세포 또는 표적세포로 사용하였다.

세포증식 측정

세포증식 측정은 Cell titer 96[®] Aqueous One Solution Cell proliferation Assay를 사용하였으며, 각각 배양된 배양액 100 μL 에 Cell titer 15 μL 씩 첨가하여 4~8시간 동안 배양한 다음 490 nm에서 O.D.값을 측정하였다. 세포증식을 위한 배양은 비장세포(C57BL/6, 5×10^5 cell/well)와 T세포(BALB/c, 3, 5. 10×10^5 cell/well)를 첨가하여 2, 3, 4일간 배양하였다

T세포 분비 사이토카인 농도 측정

동종항원에 대해 T세포가 반응할 때 분비하는 cytokine의 양은, 비장세포와 동종항원반응 T세포를 생약재와 같이 24시간 배양한 후에, 배양 상층액을 100 μL 씩 회수하여 상층액에 포함된 IL-2, IL-4, IL-10, IFN- γ 의 양을 ELISA(enzyme linked immunosorbent assay) kit를 이용하여 측정하였다. 이때 측정 한계치는 10 pg/mL 이었다.

한약재 추출법

한약재(가자, 당귀, 산사, 어성초, 오가피, 작약, 천궁, 황기)의 물추출물은 다음과 같은 방법에 따라 실시하였

다. 즉, 건조된 시료를 분쇄하고 0.42 mm 체를 통과시킨 다음, 200 g의 시료를 n-hexane으로 5회 반복 추출하여 hexane 추출물을 얻고, 남은 잔사를 상온에서 건조하여 탈지 시료로 사용하였다. 탈지시료의 용매별 추출은, 탈지시료를 methanol과 acetone(ME/AC) 1:1 혼합액 500 mL로 5회 추출하고, 6,000 rpm에서 20분간 원심분리한 후 여과하여 상층액과 잔사로 분리하였다. 이 상층액을 감압 농축하여 증류수 200 mL에 녹인 후, diethyl ether와 ethyl acetate(DE/EA) 1:1 혼합액으로 5회 추출하였으며, sodium sulfide anhydrous로 잔여수분을 제거하고 용매를 증발시켜 DE/EA추출물을 얻었다. 한편 DE/EA로 추출하고 남은 수층은 농축하여 ME/AC 희분으로 하였다. 열수 추출물을 얻기 위하여 methanol/acetone으로 추출한 잔사를 60°C열수로 추출한 다음 원심분리한 후 상층액을 농축하여 열수 추출물을 얻었다 이렇게 얻은 열수 추출물을 동결건조 후 보관하였으며, 실험에 사용할 때는 PBS로 50 mg/mL되게 희석하여 냉장 보존하면서 사용하였다

Cytotoxicity assay

비장세포인 표적(target)세포와, 동종항원에 반응하는 분리된 T세포인 효자(effector)세포의 비율을 10:1 또는 5:1로하여 round bottom plate에 final volume이 100 μ L가 되게 넣고 4°C, 250 g에서 5분간 원심침전하여 37°C, 5% CO₂ incubator에 8시간 배양하였다. 단, 배양시간이 8시간이 되기 45분전에 target maximum과 volum correcting control에는 lysis buffer를 첨가하여 세포의 용해도가 최대가 되도록 하였다. 배양 후에 4°C, 250 g에서 5분간 원심침전시킨 후 상층액 50 μ L를 떠서 flat bottom 96well plate에 옮기고 여기에 50 μ L의 substrate mix buffer를 첨가하여 실온에서 알루미늄 호일을 덮어 30분간 반응시키고 stop solution을 50 μ L 넣고 ELISA reader를 이용 490 nm에서 O.D.값을 측정하여 상층액 내에 있는 lactate dehydrogenase(LDH)의 양을 측정하여 살세포작용 정도를 나타내었다. 살세포작용 정도는 다음의 식을 이용하여 산출하였다.

$$\% \text{ Cytotoxicity} = \frac{\text{Experimental-Effector Spontaneous} - \text{Target Spontaneous}}{\text{Target Maximum} - \text{Target Spontaneous}} \times 100$$

결 과

동종항원 반응 T세포 증식

동종항원에 대해 반응하는 T세포의 최대증식 조건을 결정하기 위하여 BALB/c 생쥐에서 분리한 T세포와, MMC를 처리하여 증식반응을 억제한 C57BL/6 생쥐의 비장세포를 실험에 사용하였다. 즉, 비장세포의 수를 일정

하게 5×10⁵ cell/well로 하고 분리한 T세포는 3×10⁵ cell/well(◆), 5×10⁵ cell/well(■), 1×10⁶ cell/well(▲)로 하여, 2, 3, 4일 동안 배양하여 각각의 T세포 증식 정도를 측정하였다. 그 결과 3×10⁵ cell/well, 5×10⁵ cell/well은 4일째 되는 날 T세포 증식이 가장 높게 나타났고, 1×10⁶ cell/well의 조건에서는 3일째 되는 날 T세포 증식이 가장 크게 나타났다(Fig. 1). 따라서, 다른 조건에 비해 동종항원에 대한 T세포 증식이 가장 높게 나타난 조건인, T세포 1×10⁶ cell/well로 3일간 배양하는 조건으로 다음 실험을 진행하였다.

동종항원 반응 T세포 증식억제 한약재 선별

한약재중 동종항원에 대해 반응하는 T세포의 증식을 억제하는 것을 선별하기 위해서 가자, 당귀, 산사, 어성초, 오가피, 작약, 천궁, 황기의 추출물을 1 μ g/mL로 첨가한 후 T세포 증식억제 정도를 확인하였다. 그 결과 모든 한약재가 대조군에 비해 T세포 증식 억제 효과를 보였지만, 특히 당귀, 산사, 어성초, 오가피, 황기 등 5가지 한약재는 1 μ g/mL 농도에서 T세포 증식을 50% 이상 억제하였다(Table 1). 따라서 이들 8가지 한약재중 T세포 증식을 50% 이상 억제하는 5가지 한약재인 당귀, 산사, 어성초, 오가피, 황기를 선별하여 다음 실험에 사용하였다.

선별된 한약재의 농도별 T세포 증식억제

선별된 5가지 한약재의 농도별 T세포 증식억제 정도를 측정하였다. 즉, 비장세포 5×10⁵ cell/well에 동종항원 반응 T세포를 1×10⁶ cell/well로 하고 여기에 한약재를 0.01, 0.1, 1, 10 μ g/mL 농도로 첨가하여 3일간 배양한 다음, T세포 증식억제 효과를 확인하였다. 그 결과 한약재의 농도가 높을수록 T세포 증식 억제 효과가 컸고 그

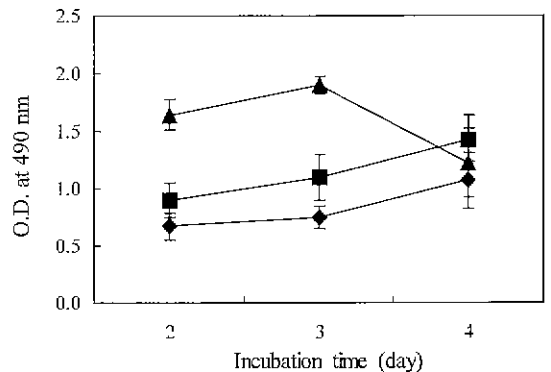


Fig. 1 Effect of cell numbers on the proliferation of T cells stimulated with allogenic spleen cells. Purified T cells (BALB/c, 3(◆), 5(■), 10(▲)×10⁵ cell/well) were stimulated for 2, 3 and 4 days with allogenic spleen cells (C57BL/6, 5×10⁵cell/well) and assayed for proliferation

Table 1. Effect of herbal plant extracts on the proliferation of alloreactive primary T cells stimulated with allogeneic spleen cells

Herbal plant extracts, 1 µg/mL	% of Inhibition
Control	00.0±0.0
<i>Terminoria chebula</i>	41.0±2.8*
<i>Angelica gigas</i>	54.5±9.2**
<i>Crataegus pinnatifida</i>	55.0±8.5**
<i>Houttuynia cordata</i>	51.5±9.2**
<i>Acanthopanax sessiliflorum</i>	51.0±9.2**
<i>Paeonia japonica</i>	38.0±2.8*
<i>Cnidium officinale</i>	39.0±7.1*
<i>Astragalus membranaceus</i>	52.0±9.9**

*Significant differences between control and experiment group at $p < 0.05$

**Significant differences between control and experiment group at $p < 0.01$

중에서도 특히 1 µg/mL 일 때 최대 증식억제 효과를 나타냄을 확인할 수 있었다(Table 2) 따라서 한약재가 동종항원 반응성 T세포의 증식을 농도 의존적으로 억제하는 것을 알 수 있었다.

T세포 cytokine 분비량

한약재의 동종항원에 대해 반응하는 T세포 증식억제 효과가 T세포가 분비하는 cytokine 양과 관계가 있는지 조사하였다. 즉, helper T세포가 분비하는 cytokine인 IL-2, IFN-γ 와, cytotoxic T세포가 분비하는 cytokine인 IL-4, IL-10의 분비량을 확인하였다. 그 결과 1 µg

/mL의 한약재를 첨가하였을 때 IL-2 분비량의 억제 정도는 크게 차이가 나지 않았지만, IFN-γ의 경우 당귀와 황기를 첨가한 경우를 제외한 나머지 실험군에서 IFN-γ의 분비량이 현저하게 억제되는 것을 확인할 수 있었다(Table 3) 그러나, 당귀 또는 황기를 첨가하였을 때는 오히려 IFN-γ의 분비량이 증가하였다. 그리고, IL-4는 모든 실험군에서 거의 측정할 수가 없었고, IL-10의 분비량도 대조군에 비해 유의한 차이가 나타나지 않았다. 이상의 결과를 종합해 보면 한약재가 T세포 증식을 억제하는 것이 T세포가 분비하는 사이토카인의 분비량과는 직접적인 상관관계가 없는 것으로 생각된다

Cytotoxicity 측정

다음으로 동종항원을 인식하여 동종항원을 가진 비장 세포를 죽일 때 나타나는 세포독성효과에 미치는 생약재의 영향을 조사하였다. 즉, 동종항원 반응 T세포가 동종항원을 가진 세포를 인식해서 죽일 때, 죽은 세포가 분비하는 LDH의 양을 측정하여 살해세포 독성작용에 미치는 효과를 알아보았다. 그 결과 대조군으로 동종항원 반응 T세포와, MMC 처리한 동종항원 비장세포만을 배양했을 때 분비되는 LDH의 양은 27%였고, 여기에 1 µg/mL 농도의 생약재를 첨가하였을 때 분비되는 LDH의 양은 0~13%로 나타나서, 동종항원 반응성 T세포의 살해세포작용이 억제되는 것을 알 수 있었다. 특히, 5가지 한약재 중 오가피와 황기를 처리한 실험군에서는 LDH의 분비가 거의 되지 않아 동종항원에 대해 반응하는 T세포의 살해

Table 2. Effect of herbal plant extracts on the proliferation of alloreactive primary T cells stimulated with allogeneic spleen cells

Herbal plant extracts	% of Inhibition, µg/mL				
	0	0.01 µg/mL	0.1 µg/mL	1 µg/mL	10 µg/mL
Control	00.0±00.0	-	-	-	-
<i>Angelica gigas</i>	-	4.0±12.4	39.8±2.1*	52.8±5.3**	39.8±5.5*
<i>Crataegus pinnatifida</i>	-	26.8±18.7*	42.2±3.2*	58.5±2.3**	47.9±1.5*
<i>Houttuynia cordata</i>	-	25.2±16.3*	56.9±2.1**	54.8±2.1**	45.5±1.5*
<i>Acanthopanax sessiliflorum</i>	-	25.2±12.4*	45.5±2.0*	53.7±1.0**	51.2±5.0**
<i>Astragalus membranaceus</i>	-	31.7±13.4*	46.3±1.7*	49.6±2.5**	32.5±1.2*

*Significant differences between control and experiment group at $p < 0.05$

**Significant differences between control and experiment group at $p < 0.01$

Table 3. Effects of herbal plant extracts on the cytokine production of primary alloreactive T cells stimulated with allogeneic spleen cells

Herbal plant extracts, 1 µg/mL	Cytokines, pg/mL			
	IL-2	IFN-γ	IL-4	IL-10
Control	372.4±4.2	644.3±12.1	<10	430.0±148.5
<i>Angelica gigas</i>	320.6±7.9	815.7±10.1	11.4±1.6	505.0±169.7
<i>Crataegus pinnatifida</i>	322.4±7.1	294.3±9.1	<10	300.0±49.5
<i>Houttuynia cordata</i>	319.6±5.9	330.0±6.1	<10	355.0±70.7
<i>Acanthopanax sessiliflorum</i>	322.8±2.0	365.7±5.1	<10	230.0±77.8
<i>Astragalus membranaceus</i>	333.2±6.5	2437.1±3.0**	<10	650.0±190.9

**Significant differences between control and experiment group at $p < 0.01$

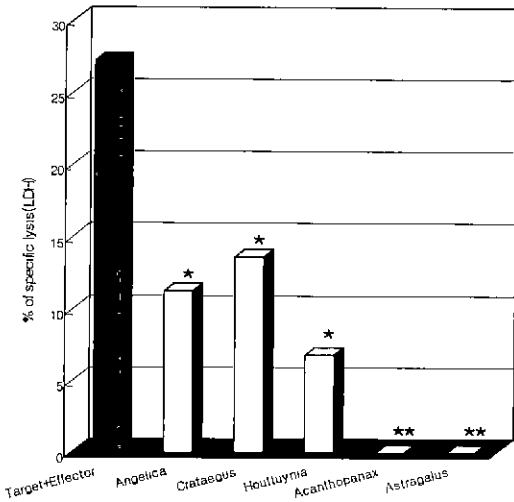


Fig. 2. Suppression of killing activity of MLR-induced CTL by various herbal plant extracts. MLR-induced CTL was incubated with various herbal plant extracts (1 µg/mL) for 8 hrs, and killing activity of CTL was determined as described in materials and methods. *Significant differences between control and experiment group at $p < 0.05$. **Significant differences between control and experiment group at $p < 0.01$.

세포작용을 최대로 억제하는 것을 알 수 있었다(Fig. 2)

고찰

손상된 조직에서 자가치료가 불가능할 경우 가장 먼저 생각할 수 있는 것이 이식이다 이러한 이식은 자기조직을 이식할 경우 문제가 되지 않겠지만 자가공여조직이 부족한 경우 또는 불가능한 경우 생각할 수 있는 이종 및 동종이식이 문제가 된다 이식에 대한 이론들이 정립되면서 성공적인 이식을 위하여 이식 거부반응을 조절할 수 있는 방법들도 연구가 되어 왔다. 그 중에서 가장 흔하게 쓰이며 또한 이식성공에 중요한 영향을 미치는 것이 면역억제법이다. 이러한 면역억제법은 면역세포의 증식을 억제하는 방법으로 corticosteroid, antilympholytic globulin, radiation, antiproliferative drug 등이 사용되고 있다(2). 이중 증식억제제는 세포가 필요로 하는 대사물질을 대치(antimetabolites)하거나 세포내 물질과 결합(alkylating agents)함으로써 임파구의 증식을 억제하는 물질이다(11,12). 최근 임상에서 가장 많이 쓰여지고 있는 면역억제제는 토양 진균류의 대사산물에서 발견된 cyclosporine A와 *Streptomyces tsukubaensis*의 발효주에서 추출한 물질인 FK-506(8-10,13) 등이다. 이들은 T 임파구에 특이적이며 IL-2를 생산하지 못하게 작용을 하고 그 외 IL-3, IL-4, GM-CSF, TNF- α 등의 cytokine 분비 또한 억제하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다(14-16). 이런 면역억제제의 경우 임상사용에 있어 부작용이나 안정성에 대한 논란이 많다.

하지만 천연물질인 한약재의 경우 예로부터 한방에서 널리 사용되어 왔기 때문에 이러한 가능성을 배제할 수 있는 장점을 지니고 있다. 또한 많은 연구들을 통해 보고되었지만 천연물질을 소재로 한 의약품의 경우 그 부작용이 거의 없는 것으로 보고되어 있다

이런 보고들은 토대로 본 실험에서는 예로부터 한방에서 널리 사용되어지고 있는 8가지 한약재 즉, 가자, 당귀, 산사, 어성초, 오가피, 작약, 천궁, 황기 등 한약재 추출물을 재료로 하여 면역억제제로서의 가능성을 살펴보았다. 그 결과 당귀, 산사, 어성초, 오가피, 황기의 추출물이 동종항원에 반응하는 T세포의 증식을 농도 의존적으로 억제하는 것을 알 수 있었다. 또한 이들 T세포의 증식에 있어 필수적인 IL-2를 포함한 cytokine 즉, IL-2, IL-4, IL-10, IFN- γ 의 생산량을 측정된 결과 대조군에 비해 한약재를 첨가한 실험군에서 일부 한약재의 IFN- γ 를 제외한 cytokine 변화가 거의 없음을 알 수 있었고, 특히 T세포 증식에 필수적인 IL-2의 변화는 거의 없는 것을 확인 할 수 있었다. 이 결과로 한약재에 의한 T세포 증식억제 효과가 T세포증식에 필수적인 cytokine인 IL-2의 생산량을 억제하기 때문에 일어나는 결과가 아님을 알 수 있었다. 또한 동종항원에 대해 반응하는 T세포 살해세포작용 억제효과를 직접적으로 측정하기 위하여 죽은 세포 밖으로 분비되는 LDH 양을 조사하였다. 그 결과 대조군에 비해 50%이상 살해세포작용 억제가 일어남을 알 수 있었고, 특히 오가피와 황기에서는 100% 살해세포작용 억제효과가 일어남을 알 수 있었다.

이상의 결과만으로 한약재의 면역억제제로서 이용 가능성을 단언할 수는 없지만, 기존의 면역억제제와 다른 경로로 동종항원에 의한 T세포의 증식을 억제하며, 살해세포작용을 억제하는 것은 분명하다. 또한 기존의 면역억제제들이 대부분 곰팡이나 박테리아 산물인 것에 비해, 한약재의 경우 천연물질을 재료로 한 것이기 때문에 임상에서 사용되었을 때, 기존의 면역억제제보다 부작용을 최소화하면서 상당한 효과를 기대할 수 있으리라 생각된다 또한 본 실험에서 사용된 약제들은 예로부터 한방에서 널리 사용되는 것으로 그 효능과 성분에 대한 연구와 보고들이 많다는 장점이 있어 면역억제제로서의 새로운 가능성을 고려하여볼 때 그 가치는 무궁하다고 생각된다

요약

본 실험에서는 동양에서 예로부터 민간요법이나 한방에서 주로 많이 쓰여지고 있는 8가지 종류의 한약재에 대해서 면역억제제로서 사용 가능성을 실험하였다. 그 결과 당귀, 산사, 어성초, 오가피, 황기의 추출물은 동종항원에 반응하는 순수분리 T세포의 증식을 농도 의존적

으로 억제시켰다. 또한 이들 T세포의 증식에 있어서 필수적인 IL-2를 포함한 cytokine 즉, IL-2, IL-4, IL-10, IFN- γ 의 생산량은 대조군에 비해 실험군에서 유의한 차이가 없었고 특히 T세포 증식에 필수적인 IL-2의 생산량의 변화가 거의 없었다 이는 한약재에 의한 T세포의 증식억제 효과가 T세포증식에 필수적인 IL-2의 생산량을 억제하기 때문에 일어나는 결과가 아님을 알 수 있었다. 그리고 T세포의 살세포작용 억제를 직접적으로 측정하기 위하여 세포내 LDH의 양을 조사한 결과 모든 대조군에서 50%이상의 살세포작용 억제가 일어났고, 그중 특히 오가피와 황기에서는 100% 살세포작용 억제가 일어났다. 따라서 본 실험에 사용된 당귀, 산사, 어성초, 오가피, 황기 등의 5가지 약재가 부작용 없는 면역억제로써 사용 가능성이 높은 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부의 원자력 연구개발 사업의 일환으로 수행되었습니다.

문헌

- 1 Billingham, R.E., Krohn, P.L and Medawar P.B. · Effect of cortisone on survival of skin homografts in rabbits *Brit. Med. J.*, **1**, 1157-1161 (1951)
- 2 McCarthy, J.G. : *Plastic Surgery* W.B. Saunders, Philadelphia, p.196 (1990)
3. Lee, R.S and Auchincloss, H Jr · Mechanisms of tolerance to allografts *Chem Immunol.*, **58**, 236-258 (1994)
4. Lafferty, K.J. · A contemporary view of transplantation tolerance : an immunologist's perspective. *Clin. Transplant*, **8**, 181-187 (1994)
5. Lechler, R., gallagher, R.B. and Auchincloss, H. · Hard graft? Future challenges in transplantation. *Immunology Today*, **12**, 214-216 (1991)
- 6 Rosenberg, A.S and Singer, A. · Cellular basis of skin allograft rejection · an in vivo model of immune-mediated tissue destruction. *Annu. Rev. Immunol.*, **10**, 333-358 (1992)
7. Kronke, M, Leonard, W, Depper, J., Arya, S, Wongstaal, F, Gallo, R., Waldmann, T and Greene, W. · Cyclosporine A inhibits T-cell growth factor gene expression at the level of mRNA transcription. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, **81**, 5214-5218 (1984)
8. Inamura, N, Nakahara, K. and Kim, T. : Prolongation of skin allograft survival in rats by immunosuppressive agent, FK-506 *Transplant*, **45**, 206-209 (1988)
9. Thomson, A.W. · FK-506 enters the clinic. *Immunology Today*, **11**, 35-36 (1990)
- 10 Lagodzinski, Z, Gorski, A and Wasik, M · Effect of FK-506 and cyclosporine on primary and secondary skin allograft survival in mice. *Immunology*, **71**, 148-150 (1990)
- 11 Levinson, M.E and Necheles, H. · Successful prolongation of survival of skin homografts *Plast. Reconstr. Surg.*, **17**, 218-222 (1956)
12. Sutton, W T, Van Hagen, F., Griffith, B.H. and Preston, F.W · Drug effects on survival of homografts of skin. *Arch. Surg.*, **87**, 840-844 (1963)
13. Thomson, A.W. · FK506-how much potential? *Immunology Today*, **10**, 6-9 (1989)
14. Turk, J.L. and Parker, D. · The effect of cyclophosphamide on the immune response. *J Immunopharmacol.*, **1**, 127-137 (1979)
- 15 Towpik, E., Kupiec-Weghinski, J.W. and Tulnev, N.L. The potential used of cyclosporine in reconstructive surgery. *Plast. Reconstr. Surg*, **76**, 312-322 (1985)
- 16 Miyagawa, S, Stepkowska, S.M. and Kahan, B.D Mechanism of unresponsiveness in rats induced by a short-course of FK506 or Cyclosporine A *Transplant Proc.*, **23**, 334-335 (1991)

(2000년 10월 2일 접수)