

# 越鞠丸合補中益氣湯이 電氣刺戟스트레스를 받은 mouse의 免疫機能에 미치는 影響

權泰植 · 李淑慶<sup>1)</sup> · 具炳壽

동국대학교 한의과대학 신경정신과 교실, <sup>1)</sup>카톨릭대학교 의과대학 의과학연구원

【초록】 본 실험은 越鞠丸合補中益氣湯의 항스트레스효과를 조사하기 위하여 시행되었다. 越鞠丸合補中益氣湯이 전기자극으로 스트레스 상황을 유발시킨 mouse에게 끼친 B 림파구 면역계 변화를 mouse 혈청의 綿羊赤血球에 대한 적혈구 응집소가와 비장세포에서 B 세포 및 T 세포가 차지하는 백분율의 변화를 통하여 측정하였으며 이를 대조군과 비교 분석하였다.

혈청 항체가 측정에서 스트레스 자극하에서 越鞠丸合補中益氣湯을 투여받은 그룹에서 약제를 투여 받지 않은 그룹에 비하여 유의성 있는 차이를 보여(p<0.01) 면역 기능을 정상군의 수준으로 유지하는 결과를 얻었다. T 세포와 B 세포의 백분율 측정에서도 스트레스 자극하에서 越鞠丸合補中益氣湯을 투여 받은 그룹에서 약제를 투여 받지 않은 그룹에 비하여 유의성 있는 차이를 보여(p<0.01) 면역 기능을 정상군의 수준으로 유지하는 결과를 얻었다. 실험결과들로 보아 越鞠丸合補中益氣湯이 체액성 면역 반응과 비장 내 면역 세포의 백분율을 정상 수준으로 유지하는 효과를 보여 면역 기능의 이상에 응용할 수 있는 가능성을 제시한다고 사료된다.

중심단말 : 越鞠丸, 補中益氣湯, 스트레스, 면역,

## I. 緒 論

韓醫學은 天人相應의 自然觀과 心身一如의 人間觀을 基礎로 人間의 身體와 精神의 變化를 自然과의 關係속에서 이해하였고, 인간에게 변화를 일으키는 요인으로 《靈樞·口問篇》<sup>42)</sup>에서는 氣候, 情動, 飲食, 起居 등을, 《三因方》<sup>36)</sup>에서는 內因, 外因, 不內外因을 論하였다. 그리고 이러한 요인들에 대한 신체반응을 氣의 변화로 설명하였는데 氣機의 변화에 의해 발생하는 대표적인 病症이 鬱症<sup>33)</sup>으로 情緒의인 충격으로 인하여 臟腑가 衰弱하게 되고, 그로 인하여 氣血 巡行이 阻滯되거나 濕熱, 食痰 등이 停滯되어 全身의 吸收나 排泄기능이 失調된 症候를 보이는 病證이다<sup>45)</sup>.

또한 자극요인들이 신체에 병적 원인을 제공하더라도 인체의 상태에 따라 질환이 발생한다고 보았는데, 《素問·刺法論》<sup>42)</sup>에서는 “正氣在內 邪不可干” 이라고 하였고, 《素問·評熱病論》<sup>42)</sup>에서는 “邪之所湊 其氣必虛” 라고 하여 邪氣는 正氣의 虛衰함을 따라 질환이 발생하는 것이며 人體의 正氣가 旺盛하면 邪氣가 쉽게 침범하지 못한다고 하였다.

현대에서 스트레스란 생체에 가해진 각종의 유해인자에 대한 생체의 반응과 그에 따른 방어 반응의 총화로<sup>27)</sup>, 한의학에서 논하는 氣候, 情緒, 飲食, 起居, 內因, 外因 등은 스트레스인자와 유사하며<sup>5)</sup>, 氣鬱은 스트레스 반응과 연관하고, 正氣는 非自己인 항원에 대하여 항체를 생산하여 인체의 恒常성을 유지하기 위한 면역반

산하여 인체의 恒常性을 유지하기 위한 면역반응과 유사하다. 한편 생체에서 일어나는 면역반응은 스트레스와 밀접한 관계가 있어서 스트레스로 인하여 면역기능이 저하되거나 항진되기도 한다<sup>47,49)</sup>.

越鞠丸은 《丹溪心法》<sup>35)</sup>에서 최초로 기재된 처방으로, “行氣解鬱, 統治六鬱”의 효능을 가지며 具<sup>1)</sup>가 抗스트레스에 대한 실험적 연구에서 有意性있는 결과를 보고한 바 있으며, 補中益氣湯은 《脾胃論》<sup>25)</sup>에 최초로 기재된 補氣劑의 代表方으로, 補中益氣, 升陽舉陷<sup>29)</sup>의 효능을 가지는 방제로 민<sup>14)</sup>이 면역조절작용에 대한 실험적 연구로 有意性있는 보고를 한 바 있다. 그러므로 諸鬱症을 풀어내는 越鞠丸과 正氣를 補하는 補中益氣湯을 승한 越鞠丸合補中益氣湯은 스트레스로 인한 免疫機能의 변화에 有意性있는 효과가 있으리라 생각된다.

지금까지 전기자극 stress에 대한 韓醫學論文으로는 實驗動物에게서 李 등<sup>12,26)</sup>이 尿의 catecholamine을, 金 등<sup>2,6,7,8,13,20,26)</sup>이 胃潰瘍에 대한 비교를, 申 등<sup>2,6,7,13,20,26)</sup>이 體重에 대한 비교를, 金 등<sup>2,6,7,8)</sup>이 물의 평균 섭취량에 대한 비교

를 진행하였으나, 면역과의 관계에 대한 실험은 미미하며, 스트레스와 면역체계의 관계에 대한 연구는 宋 등<sup>19,27,34,40)</sup>이 있으나, 아직 스트레스 부하시 면역기능의 변화에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

본 연구에서는 기존의 임상 경험과 연구결과들을 기초로 하여 越鞠丸合補中益氣湯이 전기자극으로 스트레스 상황을 유발시킨 mouse에서 B 임파구의 면역기능에 미치는 영향을 알아보고자 스트레스가 유발된 mouse 혈청의 綿羊赤血球에 대한 적혈구 응집소가의 변화와 비장세포에서 B 세포 및 T 세포가 차지하는 백분율의 변화를 비교 분석하여, 越鞠丸合補中益氣湯의 면역계에 대한 有意한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

## II. 實驗材料 및 方法

### 1. 藥 材

이 실험에 사용한 약제는 시중에서 구입하여 精選한 것을 사용하였고, 越鞠丸의 處方構成은 丹溪心法<sup>35)</sup>, 補中益氣湯은 方藥合編<sup>43)</sup>에 準하였

(1 錢 = 4g)

韓藥名	生藥名	重量
蒼朮	(Atractylis Rhizoma)	6g
香附子	(Cyperis Rhizoma)	6g
川芎	(Cnidii Rhizoma)	6g
神麩	(Massa Medicata Fermentata)	6g
梔子	(Gardeniae Fructus)	6g
以上 越鞠丸		
黃芪	(Radix Astragali)	6g
人蔘	(Radix Ginseng)	4g
白朮	(Rhizoma Atractylidis)	4g
甘草	(Radix Glycyrrhizae)	4g
當歸身	(Radix Angelicae Gigantis)	2g
陳皮	(Pericarpium Citri Nobilis)	2g
升麻	(Rhizoma Cimicifugae)	1.2g
柴胡	(Radix Bupleuri)	1.2g
以上 補中益氣湯		
總 重量		54.4g

## 2. 藥材抽出液의 調劑

越鞠丸合補中益氣湯 10첩 분량인 544g을 물 4,500cc와 섞어 2시간 30분 동안 무압력 상태에서 煎湯하여 유효성분을 추출한 후 여과하여 濃縮液 150ml를 얻었으며, 4℃에 저장한 상태로 mouse에 투여하였다.

## 3. 動物

생후 6-8 주 된 Balb/c mouse를 각 실험 군마다 암컷 2마리, 수컷 3마리씩 사용하였다. mouse를 폴리카보네이트 케이지에 5마리씩 넣어 음료수와 실험동물(mouse)용 배합사료(삼양 유지사료 주식회사, 서울 종로구)를 공급하고, 특수 무병원균(specific-pathogen-free) 환경에서 가능한 한 스트레스를 받지 않도록 조용한 분위기에서 일주일 동안 적응시켜 실험에 사용하였다.

## 4. 實驗群 分類와 煎湯液의 投與

실험군은 mouse 5마리를 한 군으로 하여 아무런 처치도 하지 않은 군(정상군, Normal), 煎湯液을 주지 않고 스트레스 자극만 준 군(스트레스 대조군, Stress control), 煎湯液만 투여하고 스트레스 자극을 하지 않은 군(煎湯液 대조군, Drug control), 煎湯液을 주고 나서 스트레스 자극을 준 군(실험군, Test)으로 나누어 실험을 시행하였다. 煎湯液을 투여한 mouse는 煎湯液을 음료수 대신 15일간 투여하고 나머지 mouse는 煎湯液 대신 飲用水(정수된 수돗물)를 15일간 공급하였다.

## 5. 電氣 刺戟 스트레스의 誘發

煎湯液 투여 11일째부터 5일간 전기자극을 가하였는데, mouse의 발이 닿으면 전기충격장치로부터 전기자극을 받도록 구리선을 5mm 간격으로 평행이 되도록 붙인 석쇠(grid) 플라스틱 판(230 x 170 x 5 mm)을 케이지 밑바닥에 꼭 맞도록 놓고 사용하였다. 전기자극은 1회(약 31분 50초 소요)에 11번 빈도, 3분 간격, 10초의

기간으로 가하며, 하루에 오전 9시와 오후 5시경 두 차례씩 5일간 가하였다. 전기자극의 강도는 첫 3일간은 1.0mA로, 마지막 2일간은 2.0mA씩 증가시켜 스트레스를 계속 유지하도록 하였다<sup>16)</sup>. 스트레스를 받지 않은 mouse들도 전기자극을 전혀 받지 않는 조건에서 전기자극 장치가 설치된 케이지에 스트레스를 받은 군과 동일한 시간과 횟수 동안 두었다가 원래의 케이지로 옮겼다.

## 6. 試 藥

본 실험에 사용한 RPMI 1640, Fetal bovine serum (FBS)과 antibiotics는 Gibco사 (Gibco BRL, Life Technol. Inc., NY, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 면양적혈구(Sheep red blood cell, SRBC)는 Union Lab에서, Phycoerythrin(PE)이 표지된 anti-mouse CD45R/B220 단일클론 항체와 FITC가 표지된 anti-mouse CD3 단일클론 항체는 PharMingen사(PharMingen, San Diego, CA, USA)에서 구입하였다. 혈액 채취에 사용된 capillary tube와 비장 세포 수확에 사용된 sandblasted single frosted slide glass는 Chase Scientific glass사(Chase Scientific Glass, Inc, Rockwood, TN, USA)에서 구입하여 사용하였다. 그 외에 사용한 일반 시약들은 특급 내지 일급 제품을 사용하였다.

## 7. 綿羊赤血球를 사용한 免役 조치

면양적혈구(SRBC)는 4℃에 보관하였고, 사용 직전에 멸균된 생리 식염수로 3회 이상 원심세척하여 필요한 농도로 멸균 생리식염수에 부유하여 사용하였다. 煎湯液을 주기 시작한 9일이 지나고 10일째 각 Balb/c mouse 당 0.5ml의 생리 식염수에 현탁된 0.2%( $2 \times 10^7$ ) 면양적혈구를 복강 주사하여 면역하였다. SRBC에 대한 면역 반응의 대조군으로 사용하기 위하여 따로 3마리의 mouse에는 아무런 처치도 하지 않고 면양적혈구도 주사하지 않은 채 다른 쥐들과 동일 조건에서 동일 기간 사육하여 사용하였다.

일 조건에서 동일 기간 사육하여 사용하였다.

### 8. 綿羊赤血球에 대한 赤血球 응집소<sup>37)</sup>

면양적혈구를 복강 주사하여 면역한 후 5일간 煎湯液을 주며 전기 자극을 가하고 나서 안와후 정동맥으로부터 모세관을 이용하여 채혈하고 혈청을 분리하였다. 분리된 혈청은 56°C water bath에서 30분간 heat inactivate 한 후 실험에 사용하였다. Round-bottom 96 well plate의 각 well에 쥐의 혈청을 2배 계열 희석하여 25ul 씩 넣고 각 혈청에 0.5% SRBC 부유액(108 SRBS/ml) 25  $\mu$ l 씩을 혼합하여 37°C에서 1시간 방치하고 나서 현미경이나 육안으로 관찰하여 응집이 일어난 혈청의 최고 희석도를 항체가로 판독하였다. 항체 중 2-mercaptoethanol (2-ME) 내성 항체(IgG)를 측정하기 위해서는 각 희석 혈청을 동량의 0.15M 2-ME와 혼합하여 37°C에 30분간 방치한 후 위와 동일한 방법으로 25  $\mu$ l의 준비된 혈청에 25  $\mu$ l의 0.5% SRBC 현탁액을 넣어 37°C에서 1시간 방치 후 응집을 일으킨 혈청의 최고 희석도를 2-ME 내성 항체로 판독하였다<sup>38)</sup>.

### 9. mouse 脾臟 細胞의 準備<sup>28)</sup>

mouse를 질식시키고 고정시킨 다음 70% alcohol로 전신을 소독하고 멸균 가위를 사용하여 비장을 무균적으로 적출한 다음, 차가운 RPMI 1640배지가 들어 있는 샤아레로 옮기고 frost된 슬라이드 글라스 사이에 끼워 비벼가며 비장 속에 들어 있는 대부분의 세포를 회수하였다. 이때 세포 중에 포함된 적혈구는 멸균 증류수를 가해 저장액을 만든 후 10초간 둔 다음 다시 등장액이 되도록 하여 제거하였다. 얻어진 세포를 생리식염수로 3회 원심세척하고 10% FBS가 들어있는 RPMI-1640에 재현탁하여 즉시 실험에 사용하였다. 이때 trypan blue dye exclusion에 의하여 측정된 세포의 생존율은 90% 이상이었다.

### 10. 免役螢光 抗體法에 의한 抗原 檢索 및 分析<sup>54)</sup>

B 세포의 확인을 위해서는 phycoerythrin(PE)이 표지된 항 mouse CD45R/B220 항체를 사용하였고 T 세포의 확인을 위해서는 FITC가 표지된 항 mouse CD3 항체를 사용하였다. 각 mouse에서 채취된 비장세포를 각각 106개 씩 3% FBS와 0.1% sodium azide가 첨가된 FACS media에 1회 세척하고 재현탁하여 항 CD45/B220 항체와 항 CD3 항체를 각각 0.5  $\mu$ g 씩 넣은 후 ice bath에 꽂아 어두운 곳에서 30분간 항체와 반응시켰다. 반응이 끝난 후 FACS media로 2회 세척하고 0.5ml FACS media에 재현탁시켜 FACStar (Becton-Dickinson, San Jose, CA, USA)로 면역형광 유량 세포분석을 시행하였다.

### 11. 資料의 統計處理

각 실험군마다 5마리의 mouse를 사용해 실험하고 얻은 수치의 평균값과 표준편차(SD)를 구하고, 유의성 검정은 student t-test를 실시하여, p값이 0.05 이하이면 유의하다고 판정하였다.

## III. 實驗結果

### 1. 電氣刺戟 스트레스에 대한 mouse의 反應

전기자극 스트레스를 받은 mouse(스트레스 대조군)들은 전기자극이 끝난 후에도 케이지 한 귀퉁이에 서로 모여 잘 움직이지 않는 모습을 볼 수 있었다. 이는 越鞠丸合補中益氣湯을 경구 투여 받거나 받지 않고 전기자극을 전혀 받지 않는 조건에서 전기자극 장치가 설치된 케이지에 스트레스를 받은 군과 동일한 시간과 횟수 동안 두었다가 원래의 케이지로 옮기는 처리를 받은 煎湯液 대조군 및 정상군의 mouse가 지속적으로 활발히 움직이는 것과는 매우 다른 모습이었다. 흥미롭게도 越鞠丸合補中益氣湯을 경구 투여 받고 전기자극을 받은 실험군의 mouse들은 스트레스 대조군과는 달리 정상군이나 煎湯液 대조군과 유사한 행동 양상을 보여 越鞠丸合補中益氣湯의 투여가 스트레스 억제 효과가 있음을 짐작할 수 있었다.

## 2. 면양적혈구에 대한 적혈구 응집소

면양적혈구로 면역 조치하기 전에 10일 간 越鞠丸合補中益氣湯을 경구 투여하고 면양적혈구 면역 조치 후 5일간 越鞠丸合補中益氣湯을 지속적으로 투여하며 전기자극 스트레스를 주고 나서 면양적혈구에 대한 총 항체가와 2-ME 내성 항체가, 즉 IgG 항체가를 측정하였다. 2배 계열 희석한 항체와 SRBC를 섞어 37°C에서 1시간 방치한 후 각각의 well을 현미경으로 관찰하면 agglutination이 일어나지 않은 경우에는 well의 중심부에 고르게 가라앉은 면양적혈구를 관찰할 수 있는데 비하여, agglutination이 일어난 경우는 면양적혈구가 서로 엉겨 있는 모습을 뚜렷이 구분할 수 있었다(Fig. 1). Fig. 2는 전체 23마리의 mouse에서 얻어진 혈청을 2배 계열 희석한 후 면양적혈구와 반응시킨 실험 결과를 보여 주는 것이다. 실험 그룹간에 차이를 보이며 특히 면양적혈구로 면역 조치되지 않은 그룹(21-23번 mouse)의 경우 어떠한 well에서도 agglutination이 일어나지 않아 면양적혈구 agglutination이 면양적혈구 주입에 의해 그에 특이적으로 생성된 항체들에 의하여 일어나는 현상임을 재확인할 수 있었다. 반면에 면양적혈구로 면역 조치된 mouse들은 그룹에 따라 다소의 차이는 보이지만 모든 경우에 면양적혈구 agglutination을 일으켰다(1-20번 mouse). 이상의 agglutination 실험 결과 얻어진 항체가를 수치로 환산하여 그래프로 나타낼 수 있다(Fig. 3). 煎湯液 투여는 받지 않고 전기자극만 받은 스트레스 대조군(6-10번 mouse)에서 煎湯液 투여도 받지 않고 전기자극도 받지 않은 정상군(1-5번 mouse)의 경우보다 적혈구 응집소가가 유의성있게 높게 나타났다( $8.4 \pm 0.89$  vs.  $6.2 \pm 0.84$ ,  $p < 0.01$ ). 즉 전기자극 스트레스를 받은 mouse에서 스트레스를 받지 않은 mouse에서보다 면양적혈구에 대한 항체 생성이 상승되는 것을 알 수 있다. 한편, 煎湯液을 투여 받고 나서 전기자극 스트레스를 받은 실험군(16-20번 mouse)의 경우 煎湯液의 투여없이 전기자극 스트레스만 받은 스트레스 대조군에 비하여 적혈

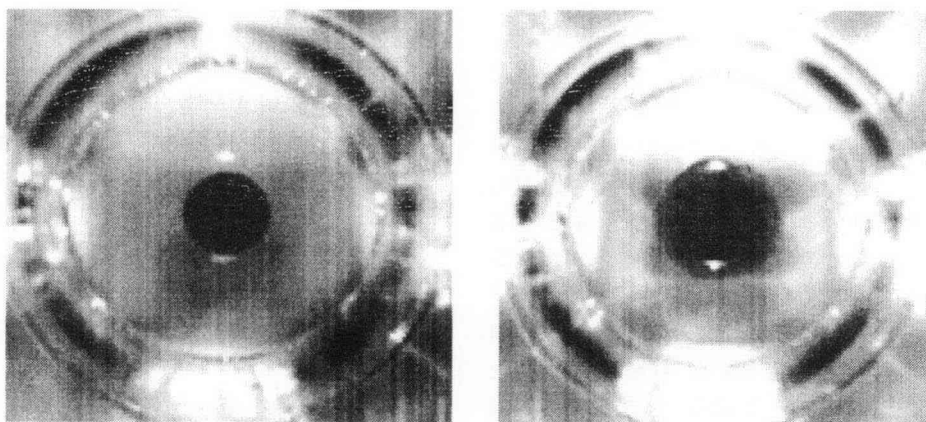
구 응집소가가 유의성 있게 감소하여( $4.8 \pm 1.3$  vs.  $8.4 \pm 0.89$ ,  $p < 0.01$ ) 越鞠丸合補中益氣湯의 투여로 전기자극 스트레스에 의해 증가되었던 응집소가가 억제되었음을 알 수 있다. 흥미롭게도 煎湯液 투여만 받고 전기자극은 받지 않은 煎湯液 대조군(11-15번 mouse)의 경우 정상군에 비하여 유의성있게 증가된 적혈구 응집소가를 나타내었다( $8.2 \pm 0.84$  vs.  $6.2 \pm 0.84$ ,  $p < 0.01$ ). 2-ME 내성 항체가를 조사한 실험에서는(Fig. 4) 대다수의 well에서 agglutination이 일어나지 않았고 그룹간에 유의성있는 차이를 확인할 수가 없었다(Normal :  $0.8 \pm 0.8$ , Stress control :  $1.2 \pm 1.3$ , Drug control :  $0.8 \pm 0.8$ , Test :  $0 \pm 0$ ). 보통 항원에 노출되고 나서 처음 생성되는 항체들이 대부분 IgM 타입이라는 것이 알려져 있으므로 본 실험에서 면양적혈구로 단 한번 면역 조치하는 경우 얻어지는 항체들이 대부분 IgM 타입이고 IgG 타입은 많이 생기지 않는다는 것을 확인할 수 있었다.

## 3. 면역형광 항체법에 의한 항원 검색 및 분석

T 세포와 B 세포가 비장세포에서 차지하는 백분율에 대한 越鞠丸合補中益氣湯의 영향을 조사하기 위하여 각 실험 동물에서 채취한 비장세포를 대상으로 FACS 분석을 실시하고 각 그룹에서 대표적인 결과 한 예씩을 Fig. 5에 예시하였다. B 세포는 정상군에서  $20.1 \pm 2.9\%$ (Mean  $\pm$  SD)이었으며 전기자극 스트레스를 받은 그룹은  $35.7 \pm 8.5\%$ 으로 유의성 있는 증가를 보였다(Fig. 6, Table. 1). 전기자극 스트레스 前後에 煎湯液을 투여받은 그룹에서는  $29.6 \pm 10.5\%$ 로 정상군과 유의성 있는 차이를 보이지 않아 전기자극에 의해 B 세포의 백분율이 증가되는 현상이 越鞠丸合補中益氣湯의 투여로 인하여 길항되었음을 알 수 있다(Fig. 7, Table. 2). 한편 越鞠丸合補中益氣湯을 투여받고 전기자극 스트레스를 받지 않은 煎湯液 대조군의 경우 B 세포가 차지하는 백분율이  $31.2 \pm 4.9\%$ 로 정상군에 비하여 유의성있는 증가를 보였다. T 세포에 있어서

여 유의성있는 증가를 보였다. T 세포에 있어서는 B 세포와 상반된 경향을 보였는데, T 세포가 차지하는 백분율이 정상군에서는  $29.7 \pm 3.4\%$ (Mean $\pm$ SD)였으며 전기자극 스트레스를 받은 그룹은  $23.9 \pm 3.0\%$ 으로 유의성있는 감소를 보였다. 전기자극 스트레스 前後에 煎湯液을 투여받은 그룹에서는  $25.4 \pm 3.4\%$ 로 정상군과 유의성있는 차이를 보이지 않아 전기자극에 의해 T

세포의 백분율이 감소되는 현상이 越鞠丸合補中益氣湯의 투여로 인하여 길항되었음을 알 수 있다(Fig. 7, Table 2). 또한 越鞠丸合補中益氣湯을 투여받고 전기자극 스트레스를 받지 않은 煎湯液 대조군의 경우 T 세포가 차지하는 백분율은  $24.5 \pm 4.0\%$ 로 정상군에 비하여 유의성있는 감소를 보였다.



**A) NO Agglutination**

**B) Agglutination**

Fig. 1. Individual wells of 'U' bottom 96 well plate viewed after agglutination experiments. A) The control settling pattern of SRBC (0.25 %) in PBS without antibody. B) The agglutination pattern of SRBC in the presence of antibody.

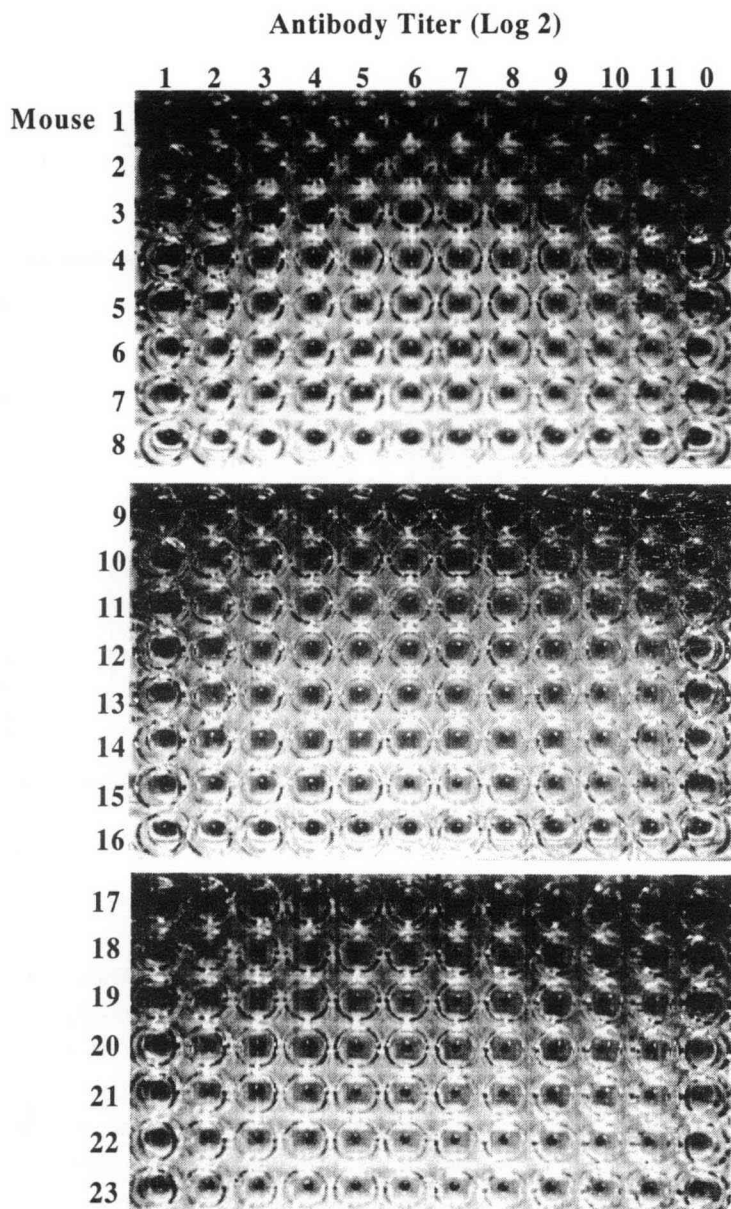


Fig. 2. The end point of agglutination experiments showing various agglutination depending on treatment and serum dilution. Each row has 2-fold diluted serum from a single mice. Last well of each row contained PBS instead of diluted serum (negative control). Mice 1-5 were not drug administrated nor electric foot shocked (Normal group). Mice 6-10 were not drug administrated but electric foot shocked (Stress control group). Mice 11-15 were drug administrated but not electric foot shocked (Drug control group). Mice 16-20 were drug administrated and electric foot shocked (Test group). Mice 1-20 were all SRBC immunized. Mice 21-23 were treated similar to mice 1-5 but not SRBC immunized for comparison.

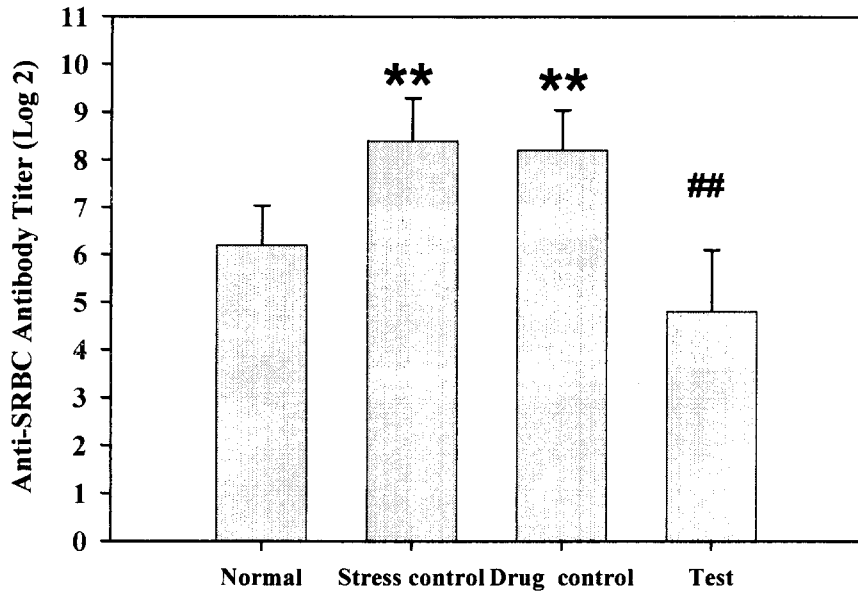


Fig. 3. Anti-SRBC titers 6 days after immunization in mice. Each column and each bar represents the mean $\pm$ SD (standard deviation) from 5 mice, respectively. Normal : Mice were not treated with drug and not shocked with electricity. Stress control : Mice were not treated with drug but shocked with electricity. Drug control : Mice were treated with drug but not shocked with electricity. Test : Mice were treated with drug and shocked with electricity. \*\*  $p < 0.01$  as compared with normal group. ##  $p < 0.01$  as compared with stress control as well as with drug control groups.



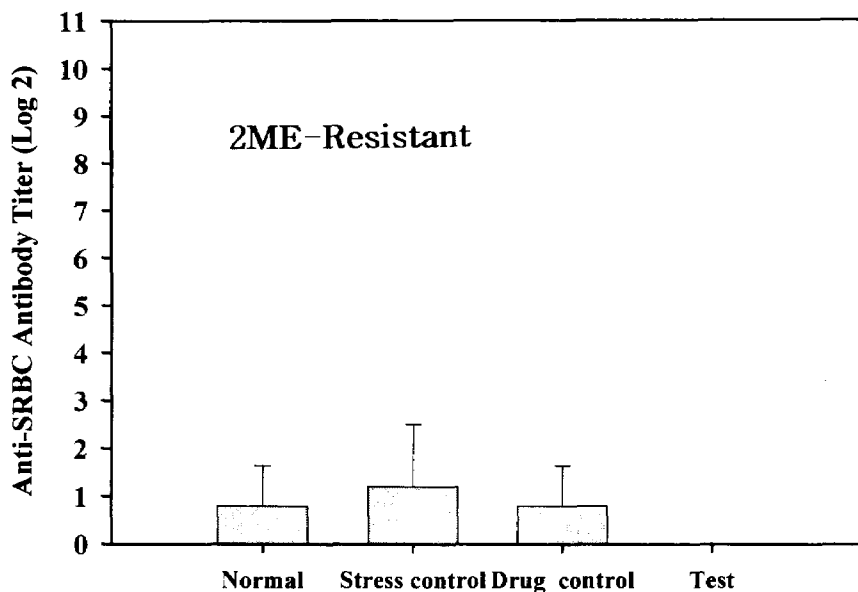


Fig. 4. 2-Mercaptoethanol-resistant anti-SRBC titers 6 days after immunization in mice. Each column and each bar represents the mean  $\pm$  SD (standard deviation) from 5 mice, respectively. Normal : Mice were not treated with drug and not shocked with electricity. Stress control : Mice were not treated with drug but shocked with electricity. Drug control : Mice were treated with drug but not shocked with electricity. Test : Mice were treated with drug and shocked with electricity.

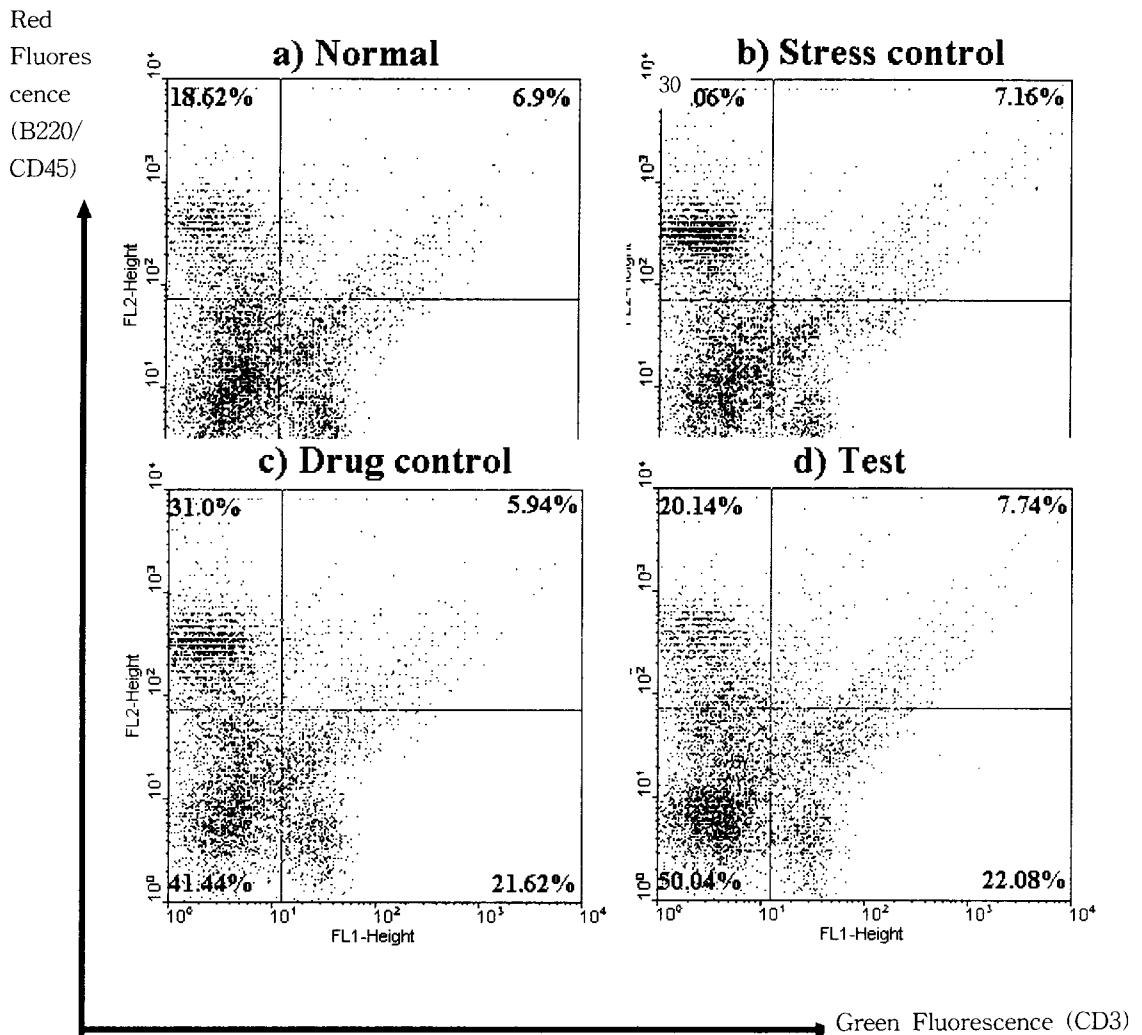


Fig. 5. Flow cytometric analysis of B220/CD45R and CD3 expression of splenocytes from mice. a) Normal : Mice were not treated with drug and not shocked with electricity. b) Stress control : Mice were not treated with drug but shocked with electricity. c) Drug control : Mice were treated with drug but not shocked with electricity. d) Test : Mice were treated with drug and shocked with electricity. After 15 day treatment, spleen was removed from each mice and the splenocytes were stained with mixture of monoclonal antibodies before they were subjected to analysis. The experiment was performed for all 5 mice for each group and representative examples in each group are shown.

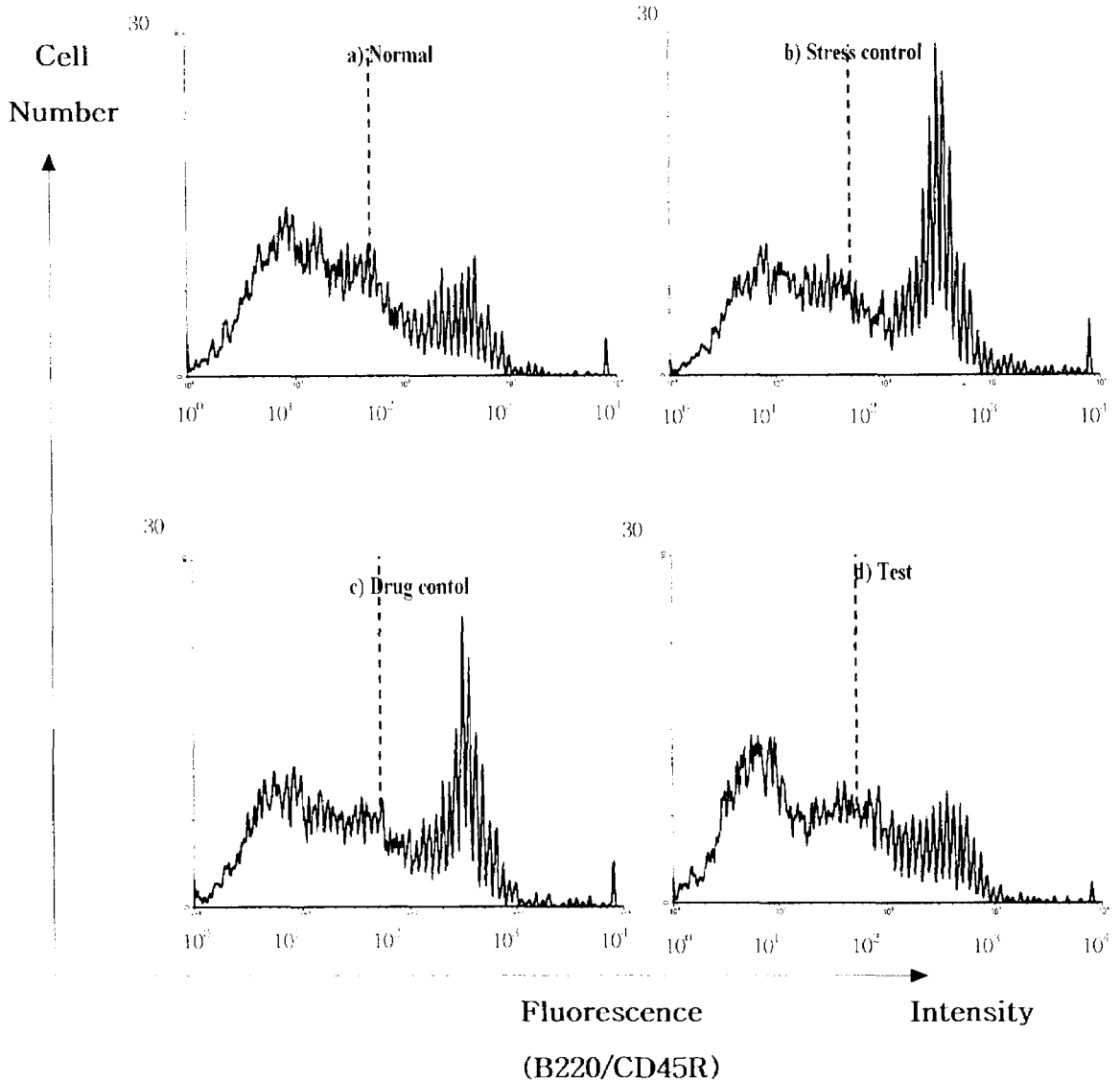


Fig. 6. Effect of drug treatment on B220/CD45R expression. a) Normal : Mice were not treated with drug and not shocked with electricity. b) Stress control : Mice were not treated with drug but shocked with electricity. c) Drug control : Mice were treated with drug but not shocked with electricity. d) Test : Mice were treated with drug and shocked with electricity. After 15 day treatment, spleen was removed from each mice and the splenocytes were stained with PE anti-mouse B220/CD45R monoclonal antibody before they were subjected to analysis. The experiment was performed for all 5 mice for each group and representative examples in each group are shown.

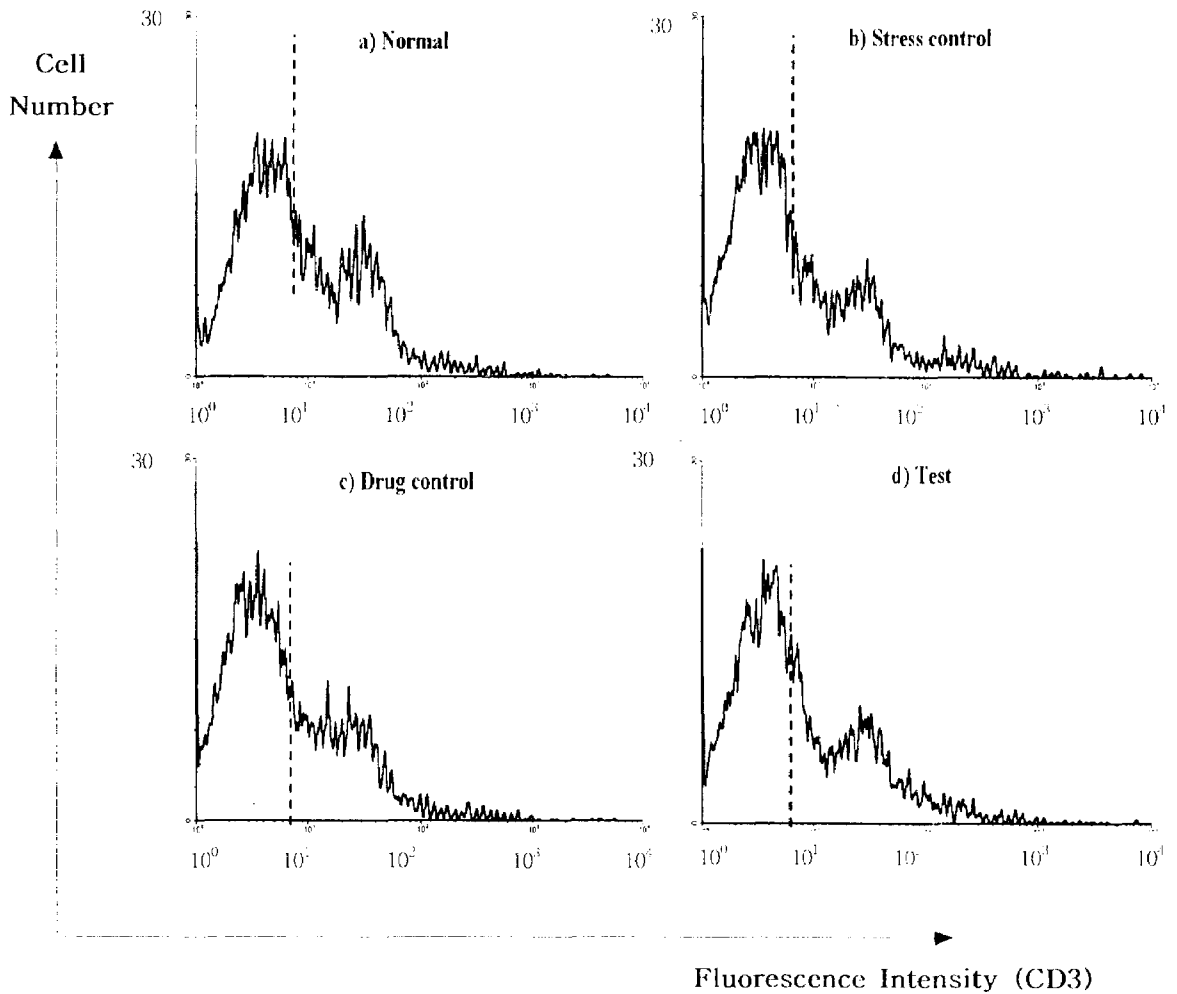


Fig. 7. Effect of drug treatment on CD3 expression. a) Normal : Mice were not treated with drug and not shocked with electricity. b) Stress control : Mice were not treated with drug but shocked with electricity. c) Drug control : Mice were treated with drug but not shocked with electricity. d) Test : Mice were treated with drug and shocked with electricity. After 15 day treatment, spleen was removed from each mice and the splenocytes were stained with FITC anti-mouse CD3 monoclonal antibody before they were subjected to analysis. The experiment was performed for all 5 mice for each group and representative examples in each group are shown.

#### IV. 考 察

스트레스는 자극 접근, 반응 접근, 상호작용 접근의 세 가지 관점으로 설명될 수 있다. 자극 접근의 관점은 스트레스를 外的인 요인에 중심을 둔 것으로, 스트레스는 가해지는 압력 수준이 일정한 수준을 벗어날 때 발생하게 되는 것이다<sup>30)</sup>. 반응 접근의 관점은 Hans Selye에 의해 제안된 개념으로 더위나 추위 위협 등의 스트레스를 가하는 경우 개체에 상관없이 동일한 형태의 반응인 일반순응증후(general adaptation syndrome)이 나타나는 것에 주목하여 스트레스 인자에 대한 반응에 중심을 둔 개념이다<sup>30,31)</sup>. 상호작용 접근의 관점은 인간과 환경과의 상호작용에 중점을 둔 것으로, 이전의 자극 접근 및 반응 접근의 입장이 인간을 환경이나 상황에 비교적 자동적으로 반응하는 수동적인 존재로 인식한 것에 비하여 상대적으로 인간의 환경에 대한 인식과 평가 및 대처의 능동적인 작용을 강조하는 관점이다. 이때의 스트레스는 사람이 자각하는 요구수준과 그 요구수준에 맞추기 위한 자기 자신의 지각적 능력간의 불균형의 결과로 나타나는 것으로 생리적 심리적 반응을 포함하게 된다<sup>30,31)</sup>.

한의학은 스트레스 개념과 유사한 여러 논의를 가지고 있는데, 《靈樞·口問篇》<sup>42)</sup>에서는 “夫百病之始生也 皆生於風雨寒暑 陰陽喜怒 飲食居處 大驚卒恐 則氣血分離” 라고 하여 六淫과 飲食起居등의 외적인 요인이 스트레스 인자로 작용한다고 하였고, 정신적인 반응인 喜怒, 大驚卒恐 역시 스트레스에 관여한다고 하였다<sup>3,41,44)</sup>. 또한 《素問·舉痛論》<sup>42)</sup>에서는 “夫百病生於氣也 怒則氣上…… 思則氣結” 이라고 하여 사람의 정서적인 반응이 내적인 스트레스 인자로서 작용한다고 하여 자극 접근 및 반응 접근의 관점에 의거한 논의를 전개하고 있음을 알 수 있다.

《素問·刺法論》<sup>42)</sup>에서는 “正氣在內 邪不可干” 이라고 하였고 《靈樞·百病始生篇》<sup>42)</sup>에서는 “風雨寒熱 不得虛 邪不能獨傷人 卒然逢疾風暴雨而不病者 蓋無虛故邪不能獨傷人” 이라고 하

Group	Mean ± SD(%)	p value
Normal	20.1 ± 2.9	
Stress control	35.7 ± 8.5	0.027*
Drug Control	31.2 ± 4.9	0.009*
Test	29.6 ± 10.5	0.134

Table 1. Effects of each treatment on B220/CD45R+ B cell population

Total spleen cells were prepared and stained with antibodies and analyzed for expression of B220/CD45R with FACStar (Becton Dickinson, CA). Results are obtained from 5 mice for each group and expressed as the mean percentages of total splenocytes ± SD (standard deviation), \*: Statistically significant.

Group	Mean ± SD(%)	p value
Normal	29.7 ± 3.4	
Stress control	23.9 ± 3.0	0.014*
Drug Control	24.5 ± 4.0	0.038*
Test	25.4 ± 3.4	0.052

Table 2. Effects of each treatment on CD3 + T cell population

Total spleen cells were prepared and stained with antibodies and analyzed for expression of CD3 with FACStar (Becton Dickinson, CA). Results are obtained from 5 mice for each group and expressed as the mean percentages of total splenocytes ± SD (standard deviation), \*: Statistically significant.

였으며 《素問·評熱病論》<sup>42)</sup>에서는 “邪之所湊其氣必虛”라고 하였다. 여기에서의 正氣는 각종 臟腑, 組織機關의 기능 활동에서부터 외부 환경에 대한 적응력, 病因에 대한 抗病力의 의미를 포괄하고 있는데, 氣는 생체의 生理之氣로서, 인간의 몸과 마음을 하나로 묶고 있는 생명체 特有의 에너지로 그 범주가 정신의 영역까지 포괄<sup>39)</sup>한다고 한다면 正氣의 개념은 보다 확장된 개념으로 이해될 수 있다. 또한 邪氣는 인체 내부를 파괴하거나 인체와 환경과의 상대적 평형 상태를 파괴하는 有害要因, 즉 六淫, 痰飲, 瘀血, 食滯 등의 인자를 가리키는 것으로 생각된다.

이와같이 질병을 正氣와 邪氣와의 역동적인 대립 관계속에서 파악하는 것은 스트레스에 대한 상호작용 접근적인 개념 역시 존재하고 있음을 보여주는 것이다. 正氣와 邪氣의 역동적인 균형을 통해서 질병을 파악한 측면은 현대의 생체 방어기체인 면역기능과 밀접한 개념으로 이해된다.

본 실험에 사용된 越鞠丸은 《丹溪心法》<sup>35)</sup>에 최초로 기재된 처방으로 開諸鬱火, 通治六鬱의 효과<sup>1)</sup>가 있다. 六鬱은 氣鬱, 濕鬱, 熱鬱, 痰鬱, 血鬱, 食鬱을 말하는데 이로 인한 胸膈痞悶, 脘腹脹痛, 吞酸嘔吐, 飲食不化 등의 증상에 사용되며, 加味越鞠丸, 越鞠二陳丸, 越鞠保和丸, 越鞠丸合二陳湯, 越鞠丸合四物湯, 越鞠溫膽湯, 越鞠丸合四七湯 등<sup>17,24,35)</sup>의 다양한 형태로 응용되었고, 六鬱湯 流氣飲子 四七湯 分心氣飲 등<sup>24)</sup>이 파생되어왔으며, 동물실험에서 文<sup>11)</sup>이 위궤양에 미치는 영향을, 具<sup>1)</sup>가 拘束스트레스를 받은 白鼠의 血漿, 尿 및 腦의 catecholamine 과 血清 total cholesterol, triglyceride, free fatty acid 함량을 측정, 抗스트레스 효과에서 유의한 결과를 보고한 적이 있다.

補中益氣湯은 《脾胃論》<sup>25)</sup>에 최초로 수록된 처방으로 黃芪, 人蔘, 白朮, 當歸, 陳皮, 升麻, 柴胡, 甘草로 구성되어 있는데 黃芪는 免疫增強作用, 人蔘은 鎮靜·免疫增強作用, 白朮은 強壯作用, 當歸는 鎮靜鎮痛作用, 陳皮는 抗過敏·鎮痙

作用, 升麻는 鎮靜·鎮痛·抗痙攣作用, 柴胡는 鎮靜·鎮痛作用, 甘草는 解毒·鎮痙·抗過敏·鎮痛作用 등이 입증된 바 있다<sup>9)</sup>. 이러한 약물들로 구성된 補中益氣湯은 현대임상에 있어 각종의 면역관계질환에 응용<sup>29)</sup>되었는데, 실험논문으로는 민 등<sup>15)</sup>의 抗스트레스효과에 대한 연구가 있다. 또한 鈴木輝彦<sup>23)</sup>이 慢性 風濕性關節炎, 全身性 紅斑性狼瘡 등의 질환에 補中益氣湯을 투여한 후 IgG의 유의성 있는 감소를 통하여 補中益氣湯이 非特異的인 면역단백질의 생성을 억제하는 작용에 대한 보고를 하였으며, 楊<sup>22)</sup>이 補中益氣湯合減方을 脾虛胃痛 患者와 脾虛泄瀉 患者에게 투여한 후 IgG를 측정한 결과 前者는 평균 1.59g/L이 상승한 반면 後者는 평균 1.91g/L이 저하된 것을 관찰하였는데, 이것은 補中益氣湯加減方이 단순히 인체의 면역기능을 향상시키거나 저하시키는 것이 아니라 인체 면역작용을 조절한다고 해석될 수 있다.

스트레스와 면역과의 관계에 있어서 스트레스가 면역 기능을 억제하고 질병에 대한 민감성을 높인다는 것은 널리 알려진 사실이다<sup>51-53)</sup>. 그러나 경우에 따라 스트레스는 면역 증진을 일으키기도 하고 다른 상황에서는 억제하기도 하는 양면적인 효과를 나타낼 수 있음이 관찰되었다<sup>48)</sup>. Henry 박사 등은 스트레스를 어떻게 받아들이는가에 따라서 다른 형태의 신경내분비 활성이 나타나므로 스트레스에 대응하는 양상에 따라 질환에 이환될 가능성이 달라질 수 있다고 제안하였다<sup>50)</sup>. 스트레스와 면역에 관한 실험 및 임상적 연구에 따르면 실험 실적으로나 자연적으로 유발된 스트레스 요인이 면역반응에 지대한 영향을 미치는 것이 알려져 있는데, 스트레스로 인한 효과는 면역반응의 형태, 스트레스 요인의 신체적, 정신적 특성, 스트레스와 면역 반응이 나타나기까지의 기간 등에 따라 차이를 보인다<sup>46)</sup>.

면역반응은 일반적으로 체액성 면역반응과 세포매개성 면역반응으로 나뉘어 지는데, 이 두 면역 반응에 관여하는 주요 세포는 림프구로서 T세포와 B세포로 나눌 수 있다. 세포매개성 면역반응은 감작된 림프구를 생산하여 이들 세포

표면에 있는 수용체와 항원이 상호작용을 하게 하는 반응으로 감작된 림프구가 바이러스 진균 및 세포에 대하여 저항을 하게 한다. 체액성 면역반응은 항체의 생성과 이를 혈액과 체액 내에 분비하는 반응으로써, 항체는 세균독소 등의 항원과 결합하여 독소를 중화시키거나, 세포표면의 항원과 결합반응을 하여 대식세포에 의해 탐식하게 하거나 보체 (complement)에 의해 용해되기 쉽게 만든다. 이러한 체액성 면역반응은 T세포의 도움을 얻어 B세포에 의해 항체가 생산되는 것으로 알려져 있는데, 항체는 항원항체 반응에 의하여 항원을 무력화시킬 뿐만 아니라 임파구, 단핵구, 다형핵백혈구 등의 항체의존성 세포파괴 등에 관여하여 세포매개성 면역반응을 유도하기도 한다. 본 실험에서 사용된 면양적혈구에 대한 적혈구 응집반응의 측정은 체액성 면역이 미치는 영향을 평가하기 위한 것인데 이중 면양적혈구에 대한 적혈구 응집반응은 적혈구 표면항원과 그에 대한 항체의 결합에 의하여 생기는 응집반응을 보는 것으로 면역시킨 항원과의 반응에 의해 항원 특이적인 항체의 생산량을 측정하는 것인데 예민하면서도 가장 용이하게 항체의 역가를 측정하는 방법이다.

본 실험의 결과를 살펴보면 전기자극 스트레스를 받은 스트레스 대조군의 mouse들은 전기자극이 끝난 후에도 케이지 한 귀퉁이에 서로 모여 잘 움직이지 않는 모습을 볼 수 있었다. 이는 전기자극을 받지 않은 정상군의 mouse가 지속적으로 활발히 움직이는 것과는 매우 다른 행동 양상으로, 전기자극에 의하여 mouse들이 스트레스를 받고 있다는 것을 알 수 있었다. 체액성 면역 효과를 평가하기 위하여 측정한 적혈구응집소가의 경우 스트레스를 받은 그룹에서 정상군의 경우보다 증가한 것을 관찰할 수 있었다. 또한 면역형광 항체법에 의해 mouse 비장 세포를 분석한 결과 비장 세포 중 B 세포가 차지하는 백분율은 증가하는 반면, T 세포가 차지하는 백분율은 감소하는 결과를 얻었다. B 세포는 주로 체액성 면역을 담당하며 각종 면역 글로불린의 합성과 분비 및 면역혈청학적 반응

등에 관여하는데, 본 실험에서 비장에 존재하는 B 세포 함량이 정상군에 비하여 스트레스를 받은 대조군에서 증가한 것은 전신을 순환하던 B 세포가 스트레스로 인하여 비장으로 모여 들었기 때문이거나 아니면 비장 내의 B 세포의 세포 분열이 촉진되었기 때문이라는 두 가지로 해석이 가능하다. 본 실험의 결과만으로는 이 두 가능성 중에서 어떠한 원인에 의한 결과인지 정확히 판정하기가 어려우나 특정 항원에 대해 특이적으로 반응하는 B 세포의 활성화로 인하여 분비되는 면역 글로불린의 양을 측정한 SRBC에 대한 응집소가도 함께 증가한 것으로 미루어 보아 정상군의 경우보다 스트레스로 인하여 B 세포의 활성화가 촉진된 것으로 사료된다. 이상에서 전기자극 스트레스를 받은 Balb/c mouse의 경우 정상군에 비하여 오히려 체액성 면역 작용이 증강되어 나타난 것을 알 수 있다.

다음으로 越鞠丸合補中益氣湯이 전기자극 스트레스를 받은 mouse에 미친 영향에 대하여 살펴본 결과 이 실험군의 mouse들은 煎湯液의 투여 없이 전기자극만 받은 mouse들이 케이지의 한 귀퉁이로 몰려 움직이지 않고 있는 것과는 대조적으로 전기자극 후에도 정상군과 같이 각기 활발히 움직이는 것을 관찰 할 수 있었다. 따라서 越鞠丸合補中益氣湯의 투여가 mouse들이 스트레스를 극복하는 과정에서 도움이 되고 있음을 유추할 수 있었다. 생체 내에서 특이 항원에 대한 세포성 및 체액성 면역 반응에 미치는 영향을 평가하기 위하여 T 세포 의존성 항원인 SRBC로 면역하고 항체 생산 반응을 측정한 결과 越鞠丸合補中益氣湯이 스트레스에 의하여 증가되었던 항체 생산 반응을 억제시키는 기전을 통하여 스트레스 극복에 관여하였음을 확인하였다. 따라서 혈청 항체가 측정 방법이 면역시킨 항원과의 반응에 의해 항원 특이적인 항원의 생산량을 측정하는 방법임을 감안하면, 전기자극 스트레스가 항원에 대한 체액성 면역 조절 작용을 과도하게 증강시킴으로써 항체 생산이 과다하게 일어나고 항원 항체 반응에 의해 면역조절이 밸런스를 잃게 되는데 비하여 越鞠

丸合補中益氣湯의 투여로 인하여 과다한 항원의 생성이 억제되고 적절한 면역 반응이 일어나도록 조절된다고 해석할 수 있을 것이다. 한편 스트레스에 의하여 변화되었던 비장 세포 중 B 세포가 차지하는 백분율과 T 세포가 차지하는 백분율도 越鞠丸合補中益氣湯의 투여로 인하여 정상군과 같은 정도로 환원되었다. 이는 스트레스 상황에서 越鞠丸合補中益氣湯의 투여에 의해 면역세포의 백분율도 정상적인 밸런스를 유지할 수 있게 된 것으로 해석될 수 있을 것이다. 이들 결과들은 越鞠丸合補中益氣湯의 투여가 전기 자극 스트레스에 의하여 일어난 면역 세포의 변화와 체액성 면역반응의 변동을 길항하여 스트레스를 극복하는데 도움을 주고 있음을 제시한다고 하겠다.

스트레스를 받지 않은 상태에서 越鞠丸合補中益氣湯이 면역작용에 준 영향을 알아보기 위하여 실험한 결과 예상치 못한 결과가 나타났다. 즉 越鞠丸合補中益氣湯의 투여 후 mouse들에게서 눈에 띄는 행동의 변화는 관찰되지 않은 반면 스트레스 대조군에서와 유사하게 SRBC에 대한 응집소가가 정상군에 비하여 유의성있게 증가하였다. 이러한 경향은 越鞠丸合補中益氣湯 투여 후 스트레스를 가한 mouse에서 煎湯液의 투여가 스트레스로 유발된 SRBC 응집소가의 증가를 길항한 결과와는 일견 반대되는 효과라고 보여진다. 게다가 면역형광 항체법에 의해 mouse 비장 세포를 분석한 결과 비장 세포 중 B 세포와 T 세포가 차지하는 백분율도 스트레스 대조군과 유사한 경향을 보였다. 이러한 결과는 煎湯液의 투여 자체가 mouse에게 스트레스로 작용하여 전기 자극 스트레스를 받은 mouse에서와 거의 유사한 면역 세포의 분포와 체액성 면역반응을 나타냈다고 해석할 수 있다. 한편 의견상 전기 자극 스트레스를 받은 mouse와 越鞠丸合補中益氣湯을 투여 받은 mouse에게서 같은 면역작용이 나타났다고 보여지나, 실제로는 전기 자극 스트레스에 의해서는 차후에 외부에서 다른 자극이 가해질 때 면역 기능이 제 기능을 발휘하지 못하게 되는 반면에 煎湯液의

투여 결과로는 외부의 다른 자극(본 실험에서는 전기 자극 스트레스)이 가해질 때 면역 조절을 원활히 하여 생체의 항상성을 유지하는데 도움이 되는 방향으로 작용할 것으로 해석 할 수도 있다.

그러므로 스트레스 대조군의 경우 스트레스에 의하여 인체의 면역기능이 상승된 것과 마찬가지로 煎湯液의 투여가 인체의 면역기능을 상승시켰다고 해석할 수 있으며, 이것은 스트레스에 의한 과항진 현상이 아닌 안정된 상태에서의 면역기능의 상승을 의미하는 것이며 스트레스가 가해진 실험군의 경우 스트레스에 처한 비정상적인 상황에서 발생한 면역기능의 과항진에 대한 조절 작용의 결과로 면역 반응치가 오히려 약물 투여군보다 저하되어 정상군과 비슷하게 되었다고 추론할 수도 있다. 그러나 越鞠丸合補中益氣湯의 '면역기능 조절에 대한 추론은 아직 논거가 부족한 부분이 있으므로 앞으로의 실험과 관찰이 더욱 진행되어야 한다고 사려된다.

## V. 結 論

전기 자극으로 스트레스 상황을 유발시킨 Balb/c mouse에 대하여 越鞠丸合補中益氣湯의 면역 조절기능을 알아보기 위하여 혈청 항체가 및 T 세포와 B 세포의 백분율을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 전기 자극에 의하여 mouse의 행동 양상이 달라지고 혈청 항체가와 비장의 B 세포 및 T 세포의 백분율의 변화가 관찰되어 전기 자극이 mouse에게 면역 기능과 행동에 영향을 미치는 스트레스로 작용함을 확인하였다.

2. 혈청 항체가에 대한 효과는 스트레스 자극 하에서 越鞠丸合補中益氣湯을 투여 받은 그룹에서 약제를 투여 받지 않은 그룹에 비하여 유의성 있는 차이를 보여( $p < 0.01$ ) 면역 기능을 정상군의 수준으로 유지하는 결과를 얻었다.



3. T 세포와 B 세포의 백분율에 대한 효과도 스트레스 자극 下에서 越鞠丸合 補中益氣湯을 투여받은 그룹에서 약제를 투여 받지 않은 그룹에 비하여 유의성 있는 차이를 보여( $p < 0.01$ ) 면역 기능을 정상군의 수준으로 유지하는 결과를 얻었다.

이상의 결과로 보아 越鞠丸合補中益氣湯이 체액성 면역 반응과 비장 내 면역 세포의 백분율을 정상 수준으로 유지하는 효과를 보여 면역 기능의 이상에 응용할 수 있는 가능성을 제시한다고 사료된다.

## 參考文獻

1. 具炳壽 : 越鞠丸 및 越鞠丸加味方이 抗스트레스 效果에 관한 實驗的 研究, 東國大學校 大學院 博士學位論文 1995
2. 金斗煥 : 丹參補血湯 加味丹參補血湯의 抗心理的 스트레스 效果에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校 大學院, 1989
3. 金相孝 : 東醫精神神經科學, 서울, 杏林出版社, p.263, 1984
4. 김정범, 박종욱, 배재훈 : 마우스에서 전기자극 스트레스의 면역조절 효과, 생물치료 정신의학 제2권:80-91, 1996
5. 김중우 황의완 : Stress에 關한 한의학적 이해, 심신스트레스학회지, 1(1):120, 1993
6. 金鐘讚 : 牛黃清心元의 抗스트레스 效果에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校 大學院, 1991.
7. 金知赫 : 天王補心丹 加減方의 抗스트레스 效果에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校 大學院, 1988.
8. 金勳煥 : 加減歸脾湯의 抗스트레스 效果에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校 大學院, 1990.
9. 雷載權 張延模 主編 : 中華臨床中藥學, 北京, 人民衛生出版社, pp.337-355, 962-966, 1585-1595, 1607-1619, 1635-1641, 1733-1753. 1998.
10. 대한심신스트레스학회, 스트레스 과학의 이해, 서울, 신광출판사, pp.14-16, 17-18 1997.
11. 文相元 : 越鞠丸과 七氣湯이 白鼠의 실험적 胃潰瘍에 미치는 영향, 東國大學校 大學院, 1987
12. 文洸模 : 歸脾湯의 抗스트레스 效果에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校 大學院, 1990.
13. 文洸模 : 柴胡舒肝散의 스트레스 效果에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校 大學院, 1990.
14. 민용태 강순수 : 補中益氣湯의 투여가 자외선조사로 저하된 마우스의 면역기능의 회복에 미치는 영향, 방제학회지, 1991
15. 朴炯瑄 : 六鬱湯이 拘束 스트레스 흰쥐의 體重, 臟器體重 및 腦 catecholamine 含量에 미치는 影響, 慶熙大學校 大學院, 1994.
16. 박영숙, 김기석 : 스트레스 반응에 향정신성 약물이 미치는 효과, 임상심리학회지, 7:1-20, 1988
17. 方 廣 編註 : 丹溪心法附餘 上, 서울, 大星文化社, p. 515, 1982
18. 巢元方 : 諸病源候論, 北京, 人民衛生出版社, pp.75-80, 1982
19. 宋允喜 外 : 溫鍼, laser鍼 및 毫鍼이 寒冷 자극으로 저하된 생쥐의 免疫反應에 미치는 영향, 경희대학교대학원, 1989.
20. 申容徹 : 補心健脾湯의 抗스트레스 效果에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校 大學院, 1991.
21. 申容澈 : 少陰人 補中益氣湯의 抗 stress 效果에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校 大學院, 1987.
22. 楊承進 : 黃芪健中湯, 補中益氣湯의 脾虛証 免疫機能影響에 대한 臨床觀察 上海中醫藥雜誌; 9 (2):28, 1983
23. 鈴木輝彦 等 : 補中益氣湯對免疫球蛋白의 影響, 中國, 國外醫學中藥中藥分冊 10(1):33, 1988
24. 李 挺 : 醫學入門, 서울, 高麗醫學, pp.566-567, 1989.
25. 李東垣 : 東垣十種醫書, 서울, 大星文化社, p.467, 1983

26. 李東鎭 : 補血安神湯 加味補血安神湯의 抗스트레스 效果에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學 校 大學院, 1988.
27. 이승기, 김중우, 황의완 : 香附子八物湯이 拘束스트레스 흰쥐의 抗스트레스와 免疫反應에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지, 8(1):81-93 1997.
28. 이은홍, 문진영, 최미정, 남경수, 김두희, 임종국 : 인삼 약침요법이 Glucocorticoid 투여 마우스의 임파구 활성화에 미치는 영향, Koran J. Immunol. 19:355-362, 1997
29. 張均倡 : 補中益氣湯, 北京, 中國中醫藥出版社, p.2, pp.30-33, 39-76, 1998
30. 장현갑 외 공역 : 현대인의 스트레스 관리, 서울, 학지사,, pp.15-22, 1998.
31. 장현갑·강성균 : 스트레스와 건강, 서울, 학지사 pp.128-139, 1996
32. 鄭光油 : 東垣學說論文集, 北京, 人民衛生出版社, pp.13-24, 137-182, 1983
33. 趙英度·金知赫·黃義完 : 六鬱湯이 拘束스트레스 흰쥐의 胃潰瘍 및 血中 catecholamine 含量에 미치는 영향, 경희한의대논문집, 15: 433 1992
34. 조진영, 황의완 : 歸脾溫膽湯이 흰쥐의 抗스트레스와 면역반응에 미치는 영향, 동의신경정신과학회지, 6(1):1-17, 1995.
35. 朱丹溪 : 丹溪心法, 北京, 中國書店, pp.230-233, 1986
36. 陳 言 : 陳無擇三因方, 臺北, 臺北聯國豐出版社, 卷二, p.6-7, 1978
37. 하대유, 박재승, 고유승, 송원재, 하형주 : 고추의 매운맛 성분 Capsaicin이 면역반응, Anaphylaxis 및 종양 발생에 미치는 영향, Korean J. Immunol. 19:229-243, 1997
38. 하대유, 임선영, 이희정 : 초기항원자극을 받은 모체로부터 출산된 신생마우스의 면역학적 기억, 대한면역학회지 8(2):101-115
39. 韓國周易學會 篇 : 주역의 현대적 조명, 서울, 범양사출판부, p.384, 1978.
40. 韓晟圭 : 스트레스에 의한 白鼠의 병리변화 및 香附子八物湯의 효능에 관한 실험적 연구, 경희대학교대학원, 1991.
41. 許 浚 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, p.113, 134, 487, 1976
42. 洪元植 : 精校黃帝內經素問, 서울, 東洋醫學研究院 出版部, p.23,36,52,94,101,124,285. 1981. 精校黃帝內經靈樞 pp.158-159, 1985
43. 黃度淵 : 新訂對譯大方藥合編(全), 서울, 행림출판, pp.117-120,1986
44. 黃義完 : 心身症, 서울, 杏林出版社, p.28, 1985
45. 黃義完·金知赫 : 東醫精神醫學, 서울, 현대의학서적사, pp.608-611, 1987.
46. Dantzer R, Kelley KW : Stress and immunity: an integrated view of relationships between the brain and the immune system. Life Sci. 1989 ; 44(26) : 1995-2008
47. David N. Khansair, Anthony J. Murgu and Robert E. Faith : Effects of stress on the immune system. Immunology Today, 11:170-175, 1990.
48. Dhabhar FS, McEwen BS : Stress-induced enhancement of antigen-specific cell-mediated immunity. J Immunol. 1996 Apr 1;156(7):2608-15
49. Galina Idova, Margarita Cheido and Lidia Devoino : Modulation of the immune response by changing neuromediator systems activity under stress, Int. J. Immunopharmac. 19:535-540, 1997.
50. Henry, J.P. & Stephens, P.M : Stress, Health, and the Social Environment: A sociobiologic approach to medicine. New York, Springer Verlag, 1977
51. Khansari DN, Murgu AJ, Faith RE : Effects of stress on the immune system. Immunol Today. 1990 11(5):170-5
52. Kort WJ : The effect of chronic stress on the immune response. Adv Neuroimmunol.

- 1994;4(1):1-11
53. Maier SF, Watkins LR, Fleshner M :  
Psychoneuroimmunology. The interface  
between behavior, brain, and immunity.  
Am Psychol. 1994 ;49(12):1004-17
54. Rincon M, Anguita J, Nakamura T, Fikrig  
E, Flavell RA : Interleukin (IL)-6 directs  
the differentiation of IL-4-producing  
CD4+ T cells. J Exp Med. 1997 Feb  
3;185(3):461-9

= Abstract =

## **Effects of Walgookwhanhab-Bojoongikgitang administration on immune-function in Balb/c mice stressed by electric footshock**

Tae-Sig Kwon · Suk-Kyeong Lee<sup>1)</sup> · Byung-Su Gu

*Dept. of Neuropsychiatry, Oriental Medical College, Dongguk University,*

*<sup>1)</sup>Catholic Research Institutes of Medical science, Catholic University*

The present experiments were designed to study the influence of Walgookwhanhab-Bojoongikgitang on immune functions of Balb/c mice under stress condition. Walgookwhanhab-Bojoongikgitang was orally administered to the mice for 15 days. On the 10th day the mice were immunized with sheep red blood cells (SRBC) and then subjected to electric footshock for 5 days (2 sessions a day, 11 footshocks a 31 min-session). The immune responses to SRBC were determined by means of hemagglutination and B / T cell populations in the spleen were studied by FACS analysis on the 16th day.

The results were as follows.

1. After electric footshock, mice became sluggish and crowded to one side of the cage. Increased antibody titer for SRBC, increased B cell population, and decreased T cell population in the spleen were also observed. These results confirm that electric footshock caused stress inducing immunological and behavioral changes in Balb/c mice.

2. Walgookwhanhab-Bojoongikgitang administration significantly antagonized the effect of electric footshock on the antibody titer for SRBC. As a result, antibody titers for SRBC in the mice treated with Walgookwhanhab-Bojoongikgitang were maintained at the similar levels as those of control group mice even after the electric footshock.

3. Walgookwhanhab-Bojoongikgitang administration also antagonized the effect of electric footshock on the B / T populations in spleen. As a result, B and T populations in the mice treated with Walgookwhanhab-Bojoongikgitang were maintained at the similar levels as in the control group mice even after the electric footshock.

- 권태식 외 2인 : 越鞠丸合補中益氣湯이 電氣刺戟스트레스를 받은 mouse의 免疫機能에 미치는 影響 -

Taken together, Walgookwhanhab-Bojoongikgitang seem to help Balb/c mice to maintain their humoral immune response and immune cell populations at a normal range under the stress conditions, suggesting its possible therapeutic use as a immune function modulator.

**Key words** : Walgookwhan, Bojoongikgitang, stress, immune