대한한방소아과학회지 제18권 제1호(2004년 8월)
J Korean Oriental Pediatrics 2004;18(1):27-48

黃芪建中湯이 Methotrexate로 유도된 흰쥐의 免疫機能低下에 미치는 影響

具珍淑, 白政翰

대구한의대학교 부속 구미한방병원 소아과

The Effect of Hwanggigunjung-tang on Imunosuppression induced by Methotrexate in Rat

Koo Jin Suk, Baek Jung Han

Department of Pediatrics, Gumi Oriental Medicine Hospital, Daegu Hanny University

Objective: The purpose of this study was to investigate the effect of Hwanggigunjung-tang(HGT) on white rats with deteriorated immunity caused by methotrexate.

Methods: First, methotrexate was fed to the white rats once a day for 4 days. After the immune responses of the rats are deteriorated, dried extracts of HGT mixed in water was fed to the rats once a day for 14 days. And then we measured the percentage of B-cell and T-cell in peripheral blood, the percentage of CD3+CD4+ T-cell and CD3+CD8+ T-cell of blood sampled from spleen and peripheral region.

Results: The percentage of B-cell of peripheral blood was not different statistically. The percentage of T-cell of peripheral blood was increased significantly in HGT group as compared with control group. The percentage of CD3+CD4+ T-cell of peripheral blood was increased significantly in HGT group as compared with control group. The percentage of CD3+CD8+ T-cell of peripheral blood was decreased in HGT group as compared with control group. The percentage of CD3+CD4+ T-cell of spleen was increased significantly in HGT group as compared with control group. The percentage of CD3+CD8+ T-cell of spleen was not different statistically.

Conclusion: According to the above results, HGT has an effect of increasing immune responses on white rats with deteriorated immunity caused by methotrexate.

Key words: Hwanggigunjung-tang(HGT), immune responses, B-cell, T-cell, CD3+CD4+ T-cell, CD3+CD8+ T-cell

접 수 : 2004년 6월 30일, 채택일자: 2004년 8월 17일
교신저자 : 구진숙, 경북 구미시 송정동 458-7번지 대구한의대학교 구미한방병원 소아과
(Tel. 054-450-7795, E-mail: chamnakoo@hanmail.net)

Ⅰ. 緖 論

인체는 끊임없이 박테리아, 바이러스, 유해한 화학물질과 같은 다양한 요인들에 노출되고 있으나 이러한 조직을 손상시키는 유기물과 화학물질에 저항할 수 있는 능력이 있어 이를 免疫(immunity)이라고 한다[1]. 免疫反應은 自然免疫(innate immunity)과 特異免疫(specific immunity)으로 구분되어 지고, 自然免疫은 외부의 화학적 물리학적 장벽과 염증반응으로 설명할 수 있으며, 特異免疫에는 細胞性 免疫(cellular immunity)과 體液性 免疫(humoral immunity)이 있다. 體液性 免疫은 주로 B 림프구에 의해 수행되어 지는 반응으로 감작된 B 림프구가 외래 항원에 반응하여 직접 항체를 생성하여 이를 체액속으로 분비하는 반응이고, 細胞性 免疫은 T 림프구에 의해 중재되어 지는 반응으로 감작된 T 림프구의 표면 수용체와 항원이 상호 작용하여 體液性 免疫反應의 항체가 미치지 못하는 어떤 세균이나 바이러스와 같은 세포내 미생물에 대한 방어를 담당한다[2,3,4]. 최근에 발표되는 연구 보고들은 질병이 면역기능과 유관한 것으로 강조하고 있으며[5] 면역기능을 증강시킴으로써 면역결핍질환, 암등의 환자들을 치료할 수 있으리라는 보고들과 함께[6], 바이러스성 질환 및 알러지성 질환의 예방과 치료, 인구의 노령화에 따른 각종 질병의 증가와도 관련되어 면역학적인 관점이 중요시되고 있다[7].

韓醫學에서는 《黃帝內經》의 <素問·刺法論>[8]에서 "正氣存內 邪不可干", <素問·評熱病論>[8] 에서 "邪之所湊 其氣必虛"라 하여 질병의 발생을 正氣와 邪氣의 관계를 통하여 설명하였다. 正氣는 人體의 正常的 機能活動과 질병에 대한 저항능력을, 邪氣는 질병을 일으키는 모든 發病原因을, 虛라는 개념은 인체의 정상적 기능활동과 질병에 대한 방어기능, 회복기능이 저하된 상태를 말하는 것으로 邪氣에 대한 正氣의 작용이 저하되어 질병이 발생하게 된다고 인식하였다. 이러한 正氣의 질병에 대한 저항능력은 현대 면역의 방어기능과 유사하므로 正氣와 病邪간의 抗爭을 면역현상으로 파악할 수 있다[9].

黃芪建中湯은 《金櫃要略》의 <血痺虛勞病脈證幷治>[10]에 수록된 處方으로 小建中湯에 黃芪를 가한 處方으로 虛勞裏急, 諸不足 등에 사용되어 온 處方이다. 黃芪는 《神農本草經》[11]에 "主癰疽 久敗瘡 排膿止痛 大風癩疾 五痔鼠瘻 補虛 小兒百病"하는 上品으로 최초로 언급된 대표적인 補氣藥이며, 지금까지 黃芪의 면역증강효과에 대한 연구들[12-15]과 小建中湯의 成長發育 促進[16]및 抗潰瘍效果에 대한 실험연구[17]는 있었으나 黃芪建中湯이 면역기능에 미치는 영향에 대한 연구는 이루어진 바 없다.

이에 著者는 methotrexate(MTX)로 흰쥐의 면역기능을 저하시킨 뒤 黃芪建中湯을 대조 투여하여 末梢血液의 B 細胞率과 T 細胞率을 측정하고 脾臟과 末梢血液내의 CD3+CD4+ T 細胞率과 CD3+CD8+ T 細胞率의 변화를 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

Ⅱ. 材料 및 方法

1. 實驗材料

1) 動物

동물은 體重 200±20g의 Sprague-Dawley계 흰쥐를 使用하였으며, 사료는 固形飼料(構成成分: 조단백질 21.1%, 조지방 3.5%, 조섬유 5.0%, 조회분 8.0%, 칼슘 0.6%, 인 0.6%)와 물을 充分히 供給하면서 實驗室 環境에서 2週 以上 적응시킨 후 사용하였다.

2) 藥材

본 實驗에서 사용된 藥材는 대구한의대학교 부속 구미한방병원 약제과에서 구입한 것을 정선하여 사용하였으며 실험에 사용한 黃芪建中湯 處方은 《東醫寶鑑》[18]에 收錄된 處方으로 그 內容과 한 貼의 用量은 다음과 같다.

韓藥名	生藥名	用量(g)
白芍藥	Radix Paeoniae Lactiflorae	20
桂枝	Ramulus Cinnamomi	12
甘草	Radix Glycyrrhizae	4
生薑	Rhizoma Zingiberis	10(5片)
大棗	Fructus Zizyphi Jujubae	20(4枚)
飴糖	Saccarum Granorum	40
黃芪	Radix Astragali	4
總量		110

2. 實驗方法

1) 檢液의 準備

上記한 黃芪建中湯 5첩 분량 550g을 5,000cc의 둥근 플라스크에 3,000cc의 증류수와 함께 넣은 다음 냉각기를 부착하고 3시간 동안 煎湯하여 0.2㎛ filter로 여과한 여액을 rotary vacumn evaporator(EYELA, Japan)에서 감압 농축하였다. 이 농축액을 -80℃ deep freezer(SANYO, Japan)에서 한시간 방치한 후 freezer dryer(EYELA, Japan)로 24시간 동안 동결 건조하여 45.0g의 분말을 얻어 이를 실험에 필요한 농도로 증류수에 녹여 조정하여 50㎖ cornical tube(Falcon, USA)에 넣어 2-4℃의 냉장고에 보관하였으며, 사용할 때 water bath에 넣어 gel상태를 완전히 녹여 사용하였다.

2) 實驗動物群 分離

正常群(normal group), 對照群(control group), 實驗群(HGT group)으로 구분하여, 한 群에 6마리씩 配定하였다. 正常群은 固形飼料와 물만을 充分히 供給하였고, 對照群은 正常群과 同一한 環境에서 MTX를 투여하였고, 實驗群에 투여하는 검액과 같은 양의 생리식염수를 경구투여 하였다. 實驗群은 對照群과 同一한 方法으로 MTX를 투여하고 黃芪建中湯 건조엑기스를 증류수에 녹여서 經口投與 하였다.

3) MTX를 이용한 免疫低下

Methotrexate(MTX; C20H11N8O5 Sigma, U.S.A)粉末을 2mg/kg으로 조정하여 생리식염수에 녹여 1㎖씩 1日 1回씩 4日間 경구투여하여 免疫을 低下시켰다.

4) 檢液 投與

MTX투여로 免疫低下를 유발한 다음 이틀째 되는 날부터 黃芪建中湯 건조엑기스를 마리 당 150.0㎎/200g씩 증류수에 녹여서 實驗群의 흰쥐에 1日 1回씩 14日間 일정한 시각

에 경구 투여하였다. 對照群은 동량의 생리식염수를 經口 投與하였다.

5) 採血

Serum은 15일째에 心臟穿刺를 통해 얻었다. Chloroform으로 마취하고 心臟穿刺하여 혈액을 EDTA(ethylene diamine tetraaccetic acid dipotassium salt)가 들어 있는 병에 넣어 잘 섞어서 응고를 방지한 뒤 사용하였다.

6) 脾臟細胞의 준비

心臟採血 후 腹部를 70% alcohol로 완전히 도포한 후 무균적으로 脾臟을 적출한 다음, 脾臟 주위의 조직들을 조심스럽게 제거하여 4℃ RPMI-1640 (GibcoBRL, NY, USA) 배지로 2회 세척한 뒤, RPMI-1640이 들어있는 petri dish에서 작은 해부가위로 脾臟을 잘게 자르고 멸균된 유리막대로 조심스럽게 문질러 脾臟細胞를 부유시켰다. 이 부유액을 스테인레스 철망(mesh No. 100: 청계상공사, 한국)에 여과하여 조직편 및 유리되지 않은 細胞덩어리를 제거하고 RPMI-1640으로 1회, HBSS(Hanks Balanced Salt Solution, Cat. No. 21250-089, GibcoBRL, USA)로 2회 세척하였다. 그 후 멸균된 증류수로 hypotonic shock을 일으켜 적혈구를 완전히 용혈시킨 뒤, 10×HBSS로 2회 세척하고 RPMI-1640배지로 한 번 더 세척한 다음 10% FBS가 첨가된 혼합배지에 脾臟細胞를 재 부유하였다.

7) 末梢血液과 脾臟내의 B 細胞率과 T 細胞率 측정

EDTA tube 에 담긴 혈액과 비장세포 부유액을 12 x 75 시험관 2개에 100㎕씩 넣었다. 각각의 시험관에 FITC Anti-Rat CD3 Monoclonal Antibody(Pharmingen, San Diego, CA, USA)를 0.1㎕ 가하고 다시 PE Anti-Rat CD45R/B220 Monoclonal Antibody (Caltag Laboratories)를 0.5㎍ 가하고 Vortex mixer로 잘 섞고 暗所에 30분간 방치한 후 lysing solution(FACS lysing solution, Becton dickinson, USA) 2㎖를 가하고 잘 섞어 다시 15분간 暗所에 방치하였다. Lysis를 확인하고 원심분리기에서 1000rpm, 5분간 원심분리한 뒤 상층액을 버리고 2㎖의 washing solution(PBS)을 가한 후 다시 1000rpm, 5분간 원심분리 하였다. 상층액을 버리고 500㎕의 PBS를 가하여 Vortex mixer로 잘 섞은 후 Flow cytometer(Becton dickinson, USA)로 분석하였다.

8) 末梢血液과 脾臟내 CD3+CD4+ T 細胞率 측정

EDTA tube 에 담긴 혈액과 비장세포 부유액을 12 x 75 시험관 2개에 100㎕씩 넣었다. 각각의 시험관에 FITC Anti-Rat CD3 Monoclonal Antibody (Pharmingen, San Diego, CA, USA)를 0.1㎕ 가하고 다시 PE Anti-Rat CD4 Monoclonal Antibody (Immunotech)를 0.5 ㎍ 가하고 Vortex mixer로 잘 섞고 暗所에 30분간 방치한 후 lysing solution(FACS lysing solution, Becton dickinson, USA) 2㎖를 가하고 잘 섞어 다시 15분간 暗所에 방치하였다. Lysis를 확인하고 원심분리기에서 1000rpm, 5분간 원심분리한 뒤 상층액을 버리고 2㎖의 washing solution(PBS)을 가한 후 다시 1000rpm, 5분간 원심분리 하였다. 상층액을 버리고 500㎕의 PBS를 가하여 Vortex mixer로 잘 섞은 후 Flow cytometer (Becton dickinson, USA)로 분석하였다.

9) 末梢血液과 脾臟내 CD3+CD8+ T 細胞率 측정

EDTA tube에 담긴 혈액과 비장세포 부유액을 12 x 75 시험관 2개에 100㎕씩 넣었다. 각각의 시험관에 FITC Anti-Rat CD3 Monoclonal Antibody (Pharmingen, San Diego, CA, USA)를 0.1㎕ 가하고 다시 PE Anti-Rat CD8 Monoclonal Antibody (Immunotech)를 0.5 ㎍ 가하고 Vortex mixer로 잘 섞고 暗所에 30분간 방치한 후 lysing solution(FACS lysing solution, Becton dickinson, USA) 2㎖를 가하고 잘 섞어 다시 15분간 暗所에 방치하였다. Lysis를 확인하고 원심분리기에서 1000rpm, 5분간 원심분리한 뒤 상층액을 버리고 2㎖의 washing solution (PBS)을 가한 후 다시 1000rpm, 5분간 원심분리 하였다. 상층액을 버리고 500㎕의 PBS를 가하여 Vortex mixer로 잘 섞은 후 Flow cytometer (Becton dickinson, USA)로 분석하였다.

3. 統計分析

모든 統計分析은 윈도우용 SPSS(ver. 11.0)를 이용하여 실시하였다. 기술 통계학적 분석을 통해 각 집단에서의 측정값을 평균±표준오차로 요약하였으며, 각 집단간의 유의성은 ANOVA test with multiple comparisons (Duncan's method)으로 분석하였다. 유의수준은 0.05로 하였다.

Ⅲ. 實驗成績

1. 末梢血液내의 B 細胞率에 미치는 影響

末梢血液내의 B 細胞率을 살펴본 결과 正常群(normal group)은 40.12±2.53%, 對照群(control group)은 35.86±1.17%, 黃芪建中湯을 投與한 實驗群(HGT group)은 35.43± 1.04%으로, 집단 간 B 細胞率은 통계적으로 유의한 차이가 없었다(F=2.273, p=0.137, ANOVA test) (Table Ⅰ, Fig. 1).

Table Ⅰ. Effect of Hwanggigunjung-tang on the Percentage of B-cell of Peripheral Blood in Rat

	B-cell in peripheral blood (%)	p-value (F-value)
Normal	40.12±2.53	
Control	35.86±1.17	0.137 (F=2.273)
HGT	35.43±1.04	

Value are expressed as mean±SEM.
Control: treated with normal saline for 14 days after administration of methotrexate. HGT treated with Hwanggigunjung-tang for 14 days after administration of methotrexate
Calculated by ANOVA test($p<0.05$)

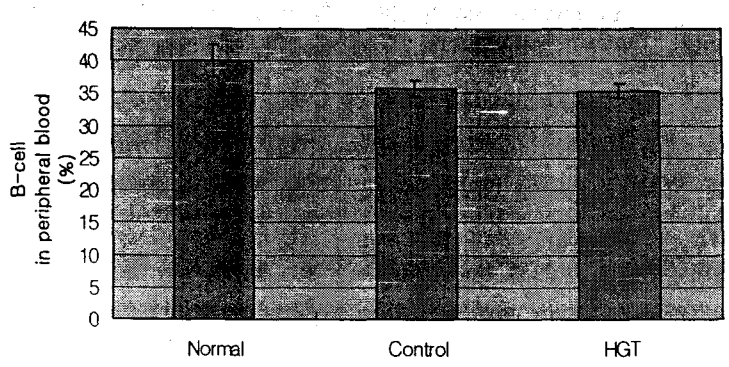

Fig. 1. Effect of Hwanggigunjung-tang on the Percentage of B-cell of Peripheral Blood in Rat.

2. 末梢血液내의 T 細胞率에 미치는 影響

末梢血液내의 T 細胞率을 살펴본 결과 正常群은 52.24±2.23%, 對照群은 42.78±1.42%, 實驗群은 48.76±1.74%으로, 집단간 T 細胞率은 통계적으로 유의한 차이가 있었으며(F=6.809, p=0.008, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意性을 검정한 결과 對照群의 T 細胞率은 正常群에 비하여 유의한 감소를 보였고, 實驗群은 對照群에 비하여 유의한 증가를 보였다(Table II, Fig. 2).

Table II. Effect of Hwanggigunjung-tang on the Percentage of T-cell of Peripheral Blood in Rat

	T-cell in peripheral blood (%)	p-value (F-value)
Normal	52.24±2.23 / A	
Control	42.78±1.42 / B	0.008* (F=6.809)
HGT	48.76±1.74 / A	

Value are expressed as mean±SEM.
Control: treated with normal saline for 14 days after administration of methotrexate
HGT: treated with Hwanggigunjung-tang for 14 days after administration of methotrexate
* Statistically significant by ANOVA test($p<0.05$)
A, B : Means with different Letter(A, B) are statistically different by multiple comparisons(Duncan's method) test

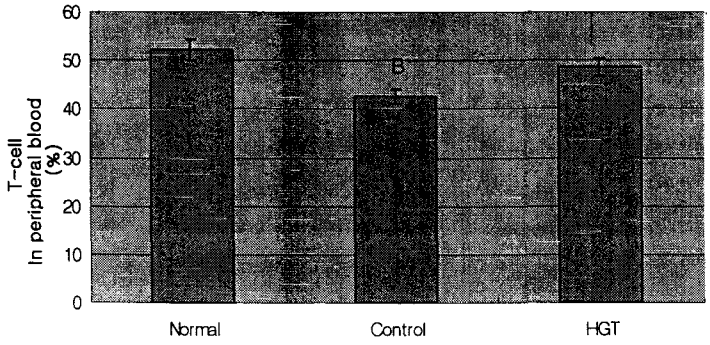

Fig. 2. Effect of Hwanggigunjung-tang on the Percentage of T-cell of Peripheral Blood in Rat.
A, B : Means with different Letter(A, B) are statistically different by multiple comparisons(Duncan's method) test

3. 末梢血液내의 CD3+CD4+ T 細胞率에 미치는 影響

末梢血液내의 CD3+CD4+ T 細胞率을 살펴본 결과 正常群은 33.54±2.66%, 對照群은 26.11±1.38%, 實驗群은 34.22±2.00%으로, 집단간 CD3+CD4+ T 細胞率은 통계적으로 유의한 차이가 있었으며(F=4.658 p=0.027, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意性을 검정한 결과 對照群의 CD3+CD4+ T 細胞率은 正常群에 비하여 유의한 감소를 보였고, 實驗群은 對照群에 비하여 유의한 증가를 보였다(Table Ⅲ, Fig. 3).

Table Ⅲ. Effect of Hwanggigunjung-tang on the Percentage of CD3+CD4+ T-cell of Peripheral Blood in Rat

	CD3+CD4+ T-cell (%)	p-value (F-value)
Normal	33.54±2.66 / A	0.027* (F=4.658)
Control	26.11±1.38 / B	
HGT	34.22±2.00 / A	

Value are expressed as mean±SEM.
Control: treated with normal saline for 14 days after administration of methotrexate.
HGT: treated with Hwanggigunjung-tang for 14 days after administration of methotrexate
* Statistically significant by ANOVA test($p<0.05$)
A, B : Means with different Letter(A, B) are statistically different by multiple comparisons(Duncan's method) test

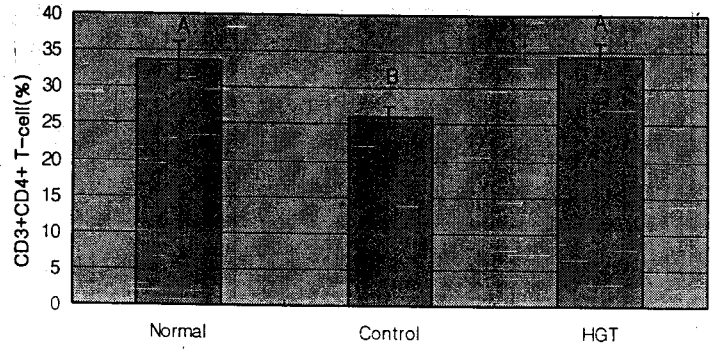

Fig. 3. Effect of Hwanggigunjung-tang on the Percentage of CD3+ CD4+ T-cell of Peripheral Blood in Rat.
A, B : Means with different Letter(A, B) are statistically different by multiple comparisons(Duncan's method) test

4. 末梢血液내의 CD3+CD8+ T 細胞率에 미치는 影響

末梢血液내의 CD3+CD8+ T 細胞率을 살펴본 결과 正常群은 14.98±1.03%, 對照群은 19.65±1.51%, 實驗群은 17.33±0.75%으로, 집단간 CD3+CD8+ T 細胞率은 통계적으로 유의한 차이가 있었으며(F=4.159, p=0.037, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意性을 검정한 결과 對照群의 CD3+CD8+ T 細胞率은 正常群에 비하여 유의한 증가를 보였고, 實驗群은 對照群에 비하여 감소하는 경향을 보였다(Table Ⅳ, Fig. 4)

Table Ⅳ. Effect of Hwanggigunjung-tang on the Percentage of CD3+CD8+ T-cell of Peripheral Blood in Rat

	CD3+CD8+ T-cell (%)	p-value (F-value)
Normal	14.98±1.03 / A	0.037* (F=4.195)
Control	19.65±1.51 / B	
HGT	17.33±0.75 / AB	

Value are expressed as mean±SEM
Control: treated with normal saline for 14 days after administration of methotrexate.
HGT: treated with Hwanggigunjung-tang for 14 days after administration of methotrexate
* Statistically significant by ANOVA test($p<0.05$)
A, B : Means with different Letter(A, B) are statistically different by multiple comparisons(Duncan's method) test

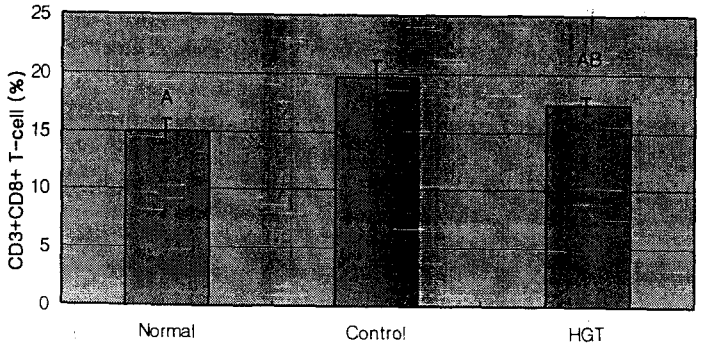

Fig. 4. Effect of Hwanggigunjung-tang on the percentage of CD3+ CD8+ T-cell of peripheral blood in rat.
A, B : Means with different Letter(A, B) are statistically different by multiple comparisons(Duncan's method) test

5. 末梢血液내의 CD4+/CD8+ T 細胞比率에 미치는 影響

末梢血液내의 CD4+/CD8+ T 細胞比率을 살펴본 결과 正常群은 2.30±0.25, 對照群은 1.35±0.10, 實驗群은 1.98±0.12으로, 집단간 CD4+/CD8+ T 細胞比率은 통계적으로 유의한 차이가 있었으며(F=8.045, p=0.004, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意性을 검정한 결과 對照群의 CD4+/CD8+ T 細胞比率은 正常群에 비하여 유의한 감소를 보였고, 實驗群은 對照群에 비하여 유의한 증가를 보였다(Table V, Fig. 5).

Table V. Effect of Hwanggigunjung-tang on the CD4+/CD8+ T-cell Ratio of Peripheral Blood in Rat

	CD4+/CD8+ T-cell ratio	p-value (F-value)
Normal	2.30±0.25 / A	
Control	1.35±0.10 / B	0.004* (F=8.045)
HGT	1.98±0.12 / A	

Value are expressed as mean±SEM.
Control : treated with normal saline for 14 days after administration of methotrexat.e
HGT: treated with Hwanggigunjung-tang for 14 days after administration of methotrexate
* Statistically significant by ANOVA test($p<0.05$)
A, B : Means with different Letter(A, B) are statistically different by multiple comparisons(Duncan's method) test

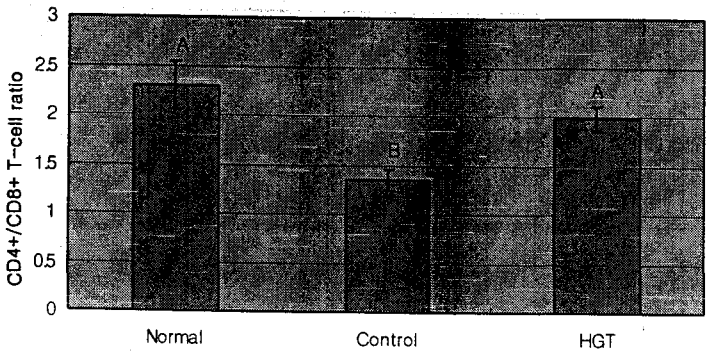

Fig. 5. Effect of Hwanggigunjung-tang on the CD4+/CD8+ T-cell Ratio of Peripheral Blood in Rat.
A, B : Means with different Letter(A, B) are statistically different by multiple comparisons(Duncan's method) test

6. 脾臟내의 CD3+CD4+ T 細胞率에 미치는 影響

脾臟내의 CD3+CD4+ T 細胞率을 살펴본 결과 正常群은 35.68±2.72%, 對照群은 29.15±1.17%, 實驗群은 36.08±1.73%으로, 집단간 CD3+CD4+ T 細胞率은 통계적으로 유의한 차이가 있었으며(F=3.846 p=0.045, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意性을 검정한 결과 對照群의 CD3+CD4+ T 細胞率은 正常群에 비하여 유의한 감소를 보였고, 實驗群은 對照群에 비하여 유의한 증가를 보였다(Table VI, Fig. 6).

Table VI. Effect of Hwanggigunjung-tang on the Percentage of CD3+CD4+ T-cell of Spleen in Rat

	CD3+CD4+ T-cell (%)	p-value (F-value)
Normal	35.68±2.72 / A	
Control	29.15±1.17 / B	0.045* (F=3.846)
HGT	36.08±1.73 / A	

Value are expressed as mean±SEM.
Control: treated with normal saline for 14 days after administration of methotrexate HGT: treated with Hwanggigunjung-tang for 14 days after administration of methotrexate
* Statistically significant by ANOVA test($p<0.05$)
A, B : Means with different Letter(A, B) are statistically different by multiple comparisons(Duncan's method) test

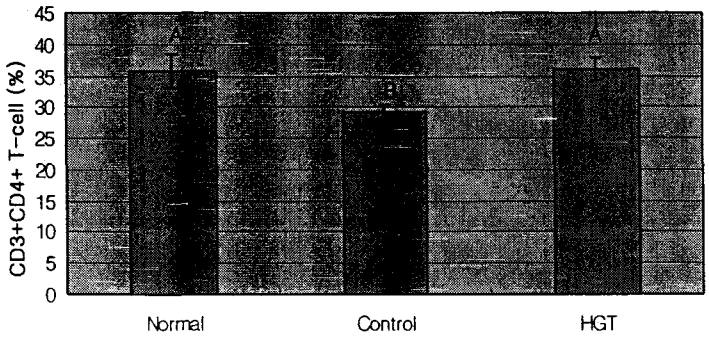

Fig. 6. Effect of Hwanggigunjung-tang on the Percentage of CD3+ CD4+ T-cell of Spleen in Rat.
A, B : Means with different Letter(A, B) are statistically different by multiple comparisons(Duncan's method) test

7. 脾臟내의 CD3+CD8+ T 細胞率에 미치는 影響

脾臟내의 CD3+CD8+ T 細胞率을 살펴본 결과 正常群은 18.37±1.62%, 對照群은 20.62±1.08%, 實驗群은 20.42±1.00%으로, 집단간 CD3+CD8+ T 細胞率은 통계적으로 유의한 차이가 없었다(F=0.960, p=0.405 ANOVA test)(Table Ⅶ, Fig. 7).

Table Ⅶ. Effect of Hwanggigunjung-tang on the Percentage of CD3+CD8+ T-cell of Spleen in Rat

	CD3+CD8+ T-cell (%)	p-value (F-value)
Normal	18.37±1.62	
Control	20.62±1.08	0.405 (F=0.960)
HGT	20.42±1.00	

Value are expressed as mean±SEM.
Control: treated with normal saline for 14 days after administration of methotrexate.
HGJ: treated with Hwanggigunjung-tang for 14 days after administration of methotrexate
Calculated by ANOVA test($p<0.05$)

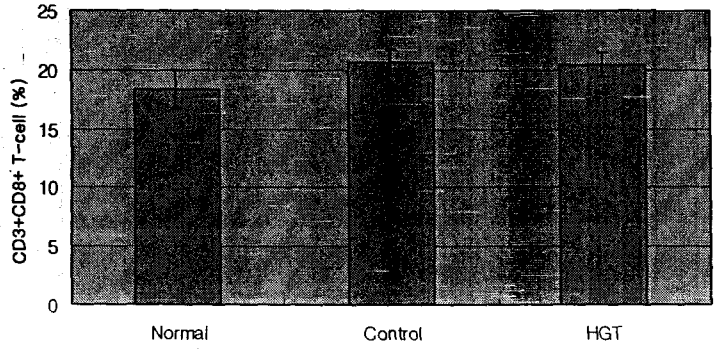

Fig. 7. Effect of Hwanggigunjung-tang on the Percentage of CD3+ CD8+ T-cell of Spleen in Rat.

8. 脾臟내의 CD4+/CD8+ T 細胞比率에 미치는 影響

脾臟내의 CD4+/CD8+ T 細胞比率을 살펴본 결과 正常群은 1.96±0.10, 對照群은 1.52±0.08, 實驗群은 1.77±0.06으로, 집단간 CD4+/CD8+ T 細胞比率은 통계적으로 유의한 차이가 있었으며(F=6.652, p=0.009, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意性을 검정한 결과 對照群의 CD4+/CD8+ T 細胞比率은 正常群에 비하여 유의한 감소를 보였고, 實驗群은 對照群에 비하여 증가하는 경향을 보였다(Table Ⅷ, Fig. 8).

Table Ⅷ. Effect of Hwanggigunjung-tang on the CD4+/CD8+ T-cell Ratio of Spleen in Rat

	CD4+/CD8+ T-cell ratio	p-value (F-value)
Normal	1.96±0.10 / A	0.009* (F=6.652)
Control	1.52±0.08 / B	
HGT	1.77±0.06 / AB	

Value are expressed as mean±SEM.
Control: treated with normal saline for 14 days after administration of methotrexate
HGT: treated with Hwanggigunjung-tang for 14 days after administration of methotrexate
* Statistically significant by ANOVA test($p<0.05$)
A, B : Means with different Letter(A, B) are statistically different by multiple comparisons(Duncan's method) test

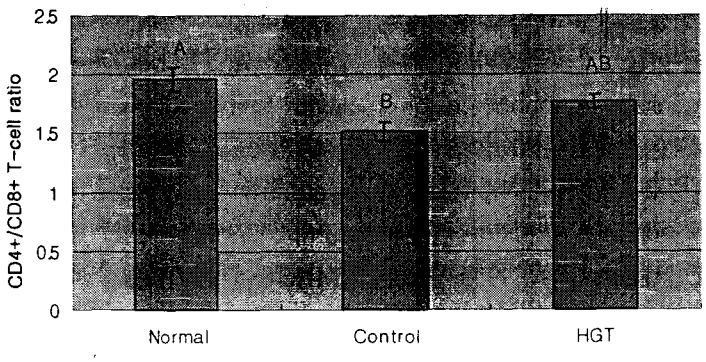

Fig. 8. Effect of Hwanggigunjung-tang on the CD4+/CD8+ T-cell Ratio of Spleen in Rat.
A, B : Means with different Letter(A, B) are statistically different by multiple comparisons(Duncan's method) test

Ⅳ. 考 察

免疫反應은 自然 免役反應(innate immune response)과 特異 免疫反應(specific immune response)의 두 종류로 분류되며, 自然 免疫反應은 화학적, 물리학적 '장벽(barrier)'과 보체계를 구성하는 성분, 염증반응의 매개체를 이루는 혈액 단백질, 식세포(phagocytic cell: neutrophil, macrophage)와 자연 살해 세포(natural killer cell)로 구성되어져 미생물에 대한 일차적인 방어를 담당하고, 特異 免疫反應을 유도하기도 한다. 特異 免疫反應(specific immune response)은 體液性 免疫(humoral immunity)과 細胞性 免疫(cellular immunity)으로 구분되며 體液性 免疫은 항체를 생성하여 체액속으로 분비함으로써 항체가 세균과 결합하여 그들의 파괴를 도와 세포외 미생물이나 미생물이 분비하는 독소에 대한 방어 작용을 수행한다. 細胞性 免疫은 바이러스나 어떤 세균과 같이 세포내 미생물이 다른 숙주 세포내에서 증식하여 순환항체의 접근이 어려운 경우 감작된 림프구를 생산하여 이들의 세포표면에 있는 수용체와 항원이 직접 상호 작용하는 반응이다[2,19].

體液性 免疫이나 細胞性 免疫 반응에 관여하는 주요세포는 림프구로, 면역 반응에 관여하는 림프구는 B 림프구와 T 림프구로 나눌 수 있다. B 림프구는 항체를 생성하는 형질세포의 전구세포이며 성숙 B림프구는 대략 末梢血液 림프구의 10-15%, 脾臟 림프구의 50%, 骨髓 림프구의 10%를 차지한다. T 림프구는 細胞性 免疫 反應에서 중개자 역할을 하며 성숙 T 림프구는 末梢血液 림프구의 70-80%, 胸線 림프구의 90%, 림프절 세포의 30-40%, 脾臟 림프구의 20-30%를 차지한다[20].

T 림프구는 다시 기능적으로 세분되는데 보조 T 림프구(helper T-lymphocyte)는 항원에 의해 자극을 받을때 사이토카인(cytokine)이란 호르몬을 분비하여 B 림프구, 대식세포, T 림프구의 증식과 분화를 자극하는 작용을 하고, 세포독성 T 림프구(cytotoxtic T-

lymphocyte)는 바이러스 감염세포, 종양세포, 이식세포등을 용해시키는 작용을 가지고, 억제 T 림프구(suppressor T -lymphocyte)는 면역반응을 억제시키는 작용을 한다. 이중 보조 T 림프구가 가장 중추적인 면역구성세포로 알려져 있으며[2,21], 이러한 T 림프구의 亞集團을 분석하거나 확인하는데 있어 가장 중요한 진보는 기능적으로 분화된 세포에 의해 각기 다른 세포막 단백질이 발현된다는 것을 밝혀낸 것이다. 서로 다른 세포막 단백질들이 각기 다른 림프구 집단을 구분 짓게 해주는 표현형 표지(phenotypic maker)로서 이용된다.

T 림프구는 골수에서 생겨 흉선으로 이동한 후 성숙하는데 이 흉선세포는 3단계의 중요한 발달과정을 거치게 되며, 이때 서로 다른 세포막 단백질들이 발현되어 각기 다른 림프구 집단을 구분 짓게 해주는 표현형 표지(phenotypic maker)로서 이용된다. 아주 초기의 흉선의 흉선세포는 CD4도 CD8도 발현하지 않아 이들을 CD4-CD8- 또는 더블 네가티브(Double Negative)로 부른다. 다음 단계에서 이들은 CD4+CD8+ 혹은 더블 포지티브(Double Positive)로 되며 마지막 단계에서 흉선세포는 CD4+CD8- 혹은 CD4-CD8+인 싱글 포지티브(Single Positive)의 세포로 발달해 간다. CD란 分化群(cluster of differentiation)의 영문약자로 림프구의 分化段階나 세포의 유래를 알아보기 위해 이용했던 단일클론 항체(monoclonal antibody)의 群(cluster)에 의해 확인된 분자를 의미하며 이로써 림프구들간의 구별이 가능해졌고, 그러한 표지에 대한 항체를 이용하여 림프구 집단을 분리하여 확인할 수 있게 되었다.

세포성 면역반응에서 중추적 역할을 하는 것으로 알려진 대부분의 보조 T 림프구는 CD4라는 표면단백질을, 또 대부분의 세포독성 T 림프구는 다른 표지인 CD8이라는 표면단백질을 발현한다. CD4와 CD8은 T 림프구의 표면 당단백질로 특징적인 양상으로 주요 조직적합성 복합계(MHC : major histocompatibility complex)에 제한적인 성숙 T 림프구의 표면에서 상호 배타적으로 발현되는 MHC분자의 비다형성 부위와 결합한다. CD4는 보조 T 림프구의 maker이며 아마도 세포와 제시항원과의 상호작용을 증강하기 위해 Class II MHC와의 결합을 보조적으로 형성하고 있을 것이며 이와 마찬가지로 세포독성 T 림프구상의 CD8도 Class I MHC와 결합하고 있다.

CD4는 Class II MHC분자와 직접 결합하여 T 림프구에서 발현하는데 TCR(T-cell receptor)은 펩타이드와 Class II MHC분자의 복합체를 인식하게 된다. 대부분의 CD4+ Class II MHC제한 T 림프구는 사이토카인(cytokine)을 생산하는 보조세포의 기능적 표현형을 가지고 있으며 CD4가 부착 및 신호전달의 연합기능을 수행함으로써 항원에 대한 T 림프구의 민감성이 크게 향상된다. 이들은 TCR과 밀접하게 연관되어 있고 항원 인식시에 표적세포 혹은 항원제시세포(APC : antigen presenting cell)위의 MHC분자와 결합하기 때문에 공조수용체라고 부른다. 말초 $\alpha\beta$ - 양성 T 림프구의 약 65%가 CD4를 발현한다. CD4의 기능적 역할은 이 분자들에 대한 특이적 항체가 체내 및 생체 외에서 T 림프구의 MHC제한 항원자극을 억제하는 능력을 통한다. 특히 CD4에 대한 항체는 Class II MHC제한 보조 T 림프구의 활성을 억제한다. CD4는 T 림프구 활성화에 있어 아래와 같은 두가지의 중요한 기능을 한다. 첫째, CD4는 MHC제한 T 림프구의 MHC분자에 대한 특이적 친화도에 의해 APC혹은 표적세포와의

부착을 증가시킨다. 둘째, CD4는 T 림프구가 APC상의 펩타이드-MHC를 인식할 때에 발생하는 초기 신호전달반응에 참여한다. 이처럼 CD4 보조 수용체의 부착 및 신호전달기능의 연합은 성숙 T 림프구의 항원자극 효율을 크게 향상시킨다. 이러한 역할을 하는 림프구 표면의 표지 단백질에 대한 항체를 사용하여 면역력을 정량할 수 있다. 末梢血液내의 CD4+ T 細胞率은 後天性 免疫缺乏性 疾患의 진전을 평가하는데 가장 보편적으로 사용하는 검사방법이며[22,7],일반적인 면역력의 표지로도 광범위하게 응용되고 있다[28-35].

억제 T 림프구에 대해서는 아직 논란의 여지가 많으나 많은 실험적 방법들에 의하면 면역반응을 억제하는 세포는 CD8+이며, CD8+ 세포의 감소가 말초혈액에서 항원에 대한 T 림프구의 반응성을 증가시킨다는 보고가 있다[36]. 이 세포는 지나친 면역반응을 억제하기 때문에 '自己'에 대한 무반응성을 유지하는데 중요한 의의를 가지고 있다. 면역계는 '自己'에 대한 반응을 철저히 억제하고 있지는 않다. '自己'와 반응하는 T세포와 자기항체를 만드는 B세포도 소수이기는 하지만 존재하는 것으로 알려지고 있다. 그 '自己' 반응성이 발동하는 것을 CD8+ 억제 T-cell이 현장에서 억제하고 있다고 사료된다[37]. 실험에서 CD8+ T-cell의 비율이 높아진 것은 면역억제제의 사용으로 인한 상기 균형의 파괴로 억제 T-cell의 비율이 높아졌기 때문으로 사료된다.

현대의학에서는 면역계통이 방어, 자기안정, 면역감시의 3대기능을 갖고 있다고 인식하고 있는데, 방어는 곧 각종 미생물의 감염에 저항하는 것, 즉 正氣가 外邪의 작용을 방어하는 것이고, 자기안정은 자기 신체의 항원을 제거하는 것으로 內邪를 없애고 인체의 陰陽平衡작용을 유지하는 것이다. 면역감시는 생체 세포의 돌발적인 변화를 만들어 내는 異己分子를 방지하는 것이다. 즉 현대 면역의 개념은 '非自己'를 식별하여 '非自己'를 배척하고 '自己'를 보존하는 것이며 이는 韓醫學에서의 正氣의 작용과 일치되는 것이다[38].

韓醫學에서는《黃帝內經》<素問·刺法論>[8]에서 "余聞五疫之至 皆相染易 無問大小 病狀相似 不施救療 如何可得 不相移易者 岐伯曰 不相染者 正氣存內 邪不可干 避其毒氣"라 하여 正氣가 안에 있으면 疫病의 毒氣를 피할 수 있음을 말하였고, <素問·評熱病論>[8]에서는 "邪之所湊 其氣必虛", <靈樞·口問>[39]에서는 "邪之所在 皆爲不足"이라 하여 正氣의 虛弱이 疾病의 發生에 根源이 되고 있음을 말하고 있다. <素問·通評虛實論>[8]에는 "邪氣盛則實 正氣奪則虛"라고 하여 正氣와 邪氣의 勢力均衡을 통하여 虛實이 分別됨을 말하였고 <素問·三部九候論>[8]에서는 "調其氣之虛實 實則瀉之 虛則補之"라 하여 虛實에 따른 補瀉의 治療原則을 말하였다. 이러한 이론에서 알 수 있듯이 正氣와 虛라는 개념을 질병 발생에서 가장 중요한 요인으로 보고 있으며 正氣라 함은 人體의 正常的 機能活動과 疾病에 대한 抵抗能力을 말하며 虛라는 개념도 人體의 正常的 機能活動과 疾病에 대한 防禦機能, 回復機能이 低下된 상태를 말하는 것으로 앞에서 설명한 면역개념과 밀접한 연관성을 가지고 있다고 볼 수 있다. 鄭[40]은 인체의 正氣가 강성하거나 邪氣의 致病力이 비교적 약할 경우에는 질병이 발생하지 않고 반대로 인체의 正氣가 비교적 약하거나 邪氣의 致病力이 비교적 강하면 인체의 抵抗力의 부족으로 질병이 발병한다고 하였으며 또한 章[41]은 正氣가 虛弱한 환자에서 면역기능이 저하되어 있다는 보고를 하였다.

이러한 연관성에 근거하여 최근 韓醫學 治療法인 韓藥, 鍼灸, 藥鍼液의 면역증강효과에 관한 연구들이 활발히 이루어지고 있다. 崔[42], 周[43], 宋[44] 등은 鍼灸療法 및 溫鍼, 레이저침이 면역기능에 미치는 영향에 대하여 연구하였고, 吉[45], 夏[46], 宋[47], 金[48], 李[49], 黃[50], 洪[51], 鄭[52] 등은 魚腥草, 人蔘, 黃芪, 歸茸湯, 鹿血生化湯, 十全大補湯, 補中益氣湯과 香砂六君子湯, 加味補兒湯의 면역효과에 대하여 연구하였고 高[53], 李[54] 등은 人蔘, 鹿茸, 當歸 藥鍼이 면역반응에 미치는 영향을 연구하였다. 특히 裵[55], 朴[56], 金[57] 등은 黃芪 藥鍼과 補中益氣湯, 人蔘이 methotrexate로 유발된 면역저하를 개선시키는 효과에 대해 연구하였고, 崔[58], 金[7] 등은 四君子湯과 四物湯, 何首烏가 MTX로 유발된 흰쥐의 면역기능저하에 미치는 영향을 보고하였으며, 李[59] 등은 蜂毒 藥鍼刺戟이 MTX로 유발된 생쥐의 면역기능저하에 미치는 영향을 연구하였다.

생체의 면역반응은 면역억제제인 MTX를 투여하면 저하되는데 이는 MTX가 folic acid와 구조상 유사하여 folic acid의 길항물질로 작용하므로 folic acid에서 folinic acid로의 전환에 관여하는 folic acid reductase를 저해하여 folic acid로 환원되는 것을 억제함으로써 DNA 합성을 방해하기 때문이며, 생체에 있어서는 folic acid 결핍을 초래하여 세포독작용으로 골수를 억제하여 백혈구 감소현상이 나타나며, 신장독성이 강하다. MTX를 동물에 투여하면 食慾不振, 出血性 泄瀉, 漸進的 體重減少, 白血球 減少, 昏睡狀態에 이르게 하여 死亡케 된다. 또한 생체 투여시 骨髓抑壓과 腸管上皮 脫落에 의한 潰瘍을 주로 일으키게 된다. 투여 6시간 이내에 장관 표피점막세포의 부종 및 공포화 현상을 일으키며, 表皮細胞 剝離, 腸管內로의 血漿 流出 등이 초래되어 심한 出血性 剝離腸炎을 일으킨다. 골수의 퇴행성 변성에도 관여하여 투여 24시간 이내에 赤血球 成熟障碍, 白血球 生成低下, 骨髓障碍, 림프조직내 림프세포 감소, 造血障碍로 말초혈액의 현저한 과립구 감소를 일으킨다. 이러한 MTX는 항암치료제 또는 면역억제제로 사용되며, 주로 T-cell(주로 helper T-cell)의 증식을 차단하며 주로 융모막암에 탁월한 효과를 보이나 骨髓抑壓, 腸管上皮 脫落에 의한 潰瘍, 胃潰瘍, 泄瀉, 皮膚炎, 腎臟障碍 등의 부작용을 일으킨다[60, 61].

黃芪建中湯은 《金櫃要略》의 <血痺虛勞病脈證幷治>[10]에 수록되어 虛勞裏急, 諸不足에 사용되어 온 처방으로 小建中湯에 黃芪를 가한 것인데, 處方의 구성은 대개의 文獻에 飴糖, 桂枝, 芍藥, 甘草, 生薑, 大棗의 小建中湯에 黃芪를 가한 것으로 되어 있다. 飴糖은 脾를 緩和시키는 고로 君藥으로 삼고 芍藥은 酸寒하니 酸味로 陰氣를 收하여 佐藥으로 삼으며 桂枝는 辛熱이니 辛味로 外로 益衛하여 表를 實하게 하고 內로 和營하여 陰을 補하여 外散內潤하게 된다. 甘草는 甘味로서 中氣를 補하고 生薑은 辛溫하고 大棗는 甘溫하여 辛甘이 相合하며 脾胃가 健運하여 營衛가 通行토록 하여 使藥으로 한다고 설명하였으며, 이에 黃芪를 가하여 虛勞裏急, 諸不足, 및 氣虛로 인한 自汗 등의 증상에 쓴다고 하였다[62-3].

黃芪建中湯에 대한 실험적 연구로는 張[64]이 胃腸疾患중 胃의 無力, 潰瘍, 疼痛등에 유효하다고 보고하였고, 朴[65]이 運動疲勞回復에 효과가 있다고 보고하였으나 黃芪建中湯이 면역기능에 미치는 영향에 대한 연구는 아직 보고되지 않았고 다만 黃芪의 單味劑나 藥鍼으로는 면역기능을 향상시킨다는 보고가 있었다[47, 54-7].

韓醫學에서는 질병의 발생을 正氣와 病邪間 抗爭을 통해 이해하여 正氣의 虛弱이 질병 발생의 근원이 된다고 인식하였으므로 그 치법은 <素問·四氣調神大論>[8]에서 "不治已病而治未病"이라고 한바와 같이 예방위주의 扶正과 祛邪의 兩大 治法에 의해 이루어졌다. 이러한 扶正은 有機體의 抗病力을 조절하고 有機體의 면역효능을 높이며 그 安定性을 증강하는 것이고, 祛邪란 면역효능을 파괴하는 요소를 배제하는 것이다. 지나치게 높은 반응은 자신의 면역성 질병을 나타내는데 이는 대부분 有機體의 항원의 자극에서 비롯되어 면역기능 실조가 일어나므로 억제하는 반응이 필요하고 祛邪의 치법이 이 반응을 억제하는데 일정한 작용이 있다. 과도하게 낮은 반응은 病源의 感染에 대하여 방어력과 저항력을 없게 하니 扶正의 치법이 의의가 있다. 이와 같이 扶正祛邪는 면역반응에 작용하여 대부분의 정황하에서 扶正은 면역을 촉진하고 祛邪는 면역반응을 억제한다.[38]

虛勞裏急, 諸不足등에 널리 사용되어온 黃芪建中湯은 正氣의 虛弱을 補하는 扶正의 藥物이라 볼 수 있으므로 면역기능의 증강에 일정한 효과가 있으리라 사료되어 본 실험을 실시한 결과 다음과 같은 유의한 결과를 얻을 수 있었다.

본 실험에서는 黃芪建中湯이 면역기능에 미치는 영향을 알아보고자 MTX를 경구 투여하여 면역반응을 저하시킨 흰쥐에게 黃芪建中湯 건조엑기스를 증류수에 녹인 검액을 경구 투여한 후 면역 기능의 지표가 되는 末梢血液내의 B 細胞率과 T 細胞率, 末梢血液과 脾臟내의 CD3+CD4+ T 細胞率과 CD3+CD8+ T 細胞率을 측정하였다.

末梢血液내의 B 細胞率은 正常群이 40.12±2.53%, 對照群은 35.86±1.17%, 黃芪建中湯을 投與한 實驗群은 35.43±1.04%으로, 집단간 B 細胞率은 통계적으로 유의한 차이가 없었으며(F=2.273, p=0.137, ANOVA test), 이는 MTX가 주로 T 림프구의 증식을 차단함으로써 면역기능을 저하시키기 때문에 B 細胞率은 별다른 변화를 관찰할 수 없었다..

末梢血液내의 T 細胞率은 正常群이 52.24±2.23%, 對照群은 42.78±1.42%, 黃芪建中湯을 投與한 群은 48.76±1.74%으로, 집단간 T 細胞率은 통계적으로 有意한 차이가 있었으며(F=6.809, p=0.008, ANOVA test), 다중비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 유의성을 검정한 결과 對照群의 T 細胞率은 正常群에 비하여 유의한 감소를 보였고, 實驗群은 對照群에 비하여 유의한 증가를 보여 黃芪建中湯이 MTX로 인해 감소된 末梢血液내의 T-cell을 증가시키는 효능이 있음을 보여주었다.

末梢血液내의 CD3+CD4+ T 細胞率은 正常群이 33.54±2.66%, 對照群은 26.11±1.38%, 實驗群은 34.22±2.00%으로, 집단간 CD3+CD4+ T 細胞率은 통계적으로 유의한 차이가 있었으며(F=4.658 p=0.027, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 유의성을 검정한 결과 對照群의 CD3+CD4+ T 細胞率은 正常群에 비하여 유의한 감소를 보였고, 實驗群은 對照群에 비하여 유의한 증가를 보여 黃芪建中湯이 MTX로 인해 감소된 末梢血液내의 보조 T-cell을 증가시키는 효능이 있음을 보여주었다.

末梢血液내의 CD3+CD8+ T 細胞率은 正常群이 14.98±1.03%, 對照群은 19.65±1.51%, 實驗群은 17.33±0.75%으로, 집단간 CD3+CD8+ T 細胞率은 통계적으로 유의한 차이가 있었으며(F=4.159, p=0.037, ANOVA test), 다중

비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 유의성을 검정한 결과 對照群의 CD3+CD8+ T 細胞率은 正常群에 비하여 유의한 증가를 보였고, 實驗群은 對照群에 비하여 감소하는 경향을 보여 黃芪建中湯이 MTX로 인해 증가된 세포독성 T-cell과 억제 T-cell의 증가를 감소시키는 효능이 있다고 여겨진다.

末梢血液내의 CD4+/CD8+ T 細胞比率은 正常群이 2.30±0.25, 對照群은 1.35±0.10, 實驗群은 1.98±0.12으로, 집단간 CD4+/CD8+ T 細胞比率은 통계적으로 유의한 차이가 있었으며(F=8.045, p=0.004, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 유의성을 검정한 결과 對照群의 CD4+/CD8+ T 細胞比率은 正常群에 비하여 유의한 감소를 보였고, 實驗群은 對照群에 비하여 유의한 증가를 보여 黃芪建中湯이 末梢血液내의 세포독성 T-cell과 억제 T-cell에 대한 보조 T-cell의 比率을 높이는 것으로 나타났다.

脾臟내의 CD3+CD4+ T 細胞率은 正常群이 35.68±2.72%, 對照群은 29.15±1.17%, 實驗群은 36.08±1.73%으로, 집단간 CD3+CD4+ T 細胞率은 통계적으로 유의한 차이가 있었으며(F=3.846 p=0.045, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 유의성을 검정한 결과 對照群의 CD3+CD4+ T 細胞率은 正常群에 비하여 유의한 감소를 보였고, 實驗群은 對照群에 비하여 유의한 증가를 보여 黃芪建中湯이 脾臟내의 보조 T-cell을 증가시키는 효능이 있음을 보여주었다.

脾臟내의 CD3+CD8+ T 細胞率은 正常群이 18.37±1.62%, 對照群은 20.62±1.08%, 實驗群은 20.42±1.00%으로, 집단간 CD3+CD8+ T 細胞率은 통계적으로 有意한 차이가 없었다(F=0.960, p=0.405 ANOVA test). 이는 脾臟내는 T-cell의 분포율이 말초혈액에 비하여 낮고 MTX가 T- cell의 증식을 차단하나 그 중 주로 보조 T-cell의 증식을 차단하기 때문이라 여겨진다.

脾臟내의 CD4+/CD8+ T 細胞比率은 正常群이 1.96±0.10, 對照群은 1.52±0.08, 實驗群은 1.77±0.06으로, 집단간 CD4+/CD8+ T 細胞比率은 통계적으로 유의한 차이가 있었으며(F=6.652, p=0.009, ANOVA test), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 유의성을 검정한 결과 對照群의 CD4+/CD8+ T 細胞比率은 正常群에 비하여 유의한 감소를 보였고, 實驗群은 對照群에 비하여 증가하는 경향을 보였다.

이상의 實驗結果로 보아 韓醫學에서 虛勞裏急, 諸不足등에 사용되어 온 黃芪建中湯이 MTX로 免疫機能의 低下가 유발된 흰쥐에서 주로 T-cell 특히 脾臟보다는 末梢血液의 T-cell에 영향을 주어, CD3+CD4+ T 細胞率은 증가시키고 CD3+CD8+ T 細胞率은 억제시킴으로 보조 T 림프구는 증가 시키고 억제 T 림프구와 세포독성 T 림프구는 제한시킴으로 면역기능을 증강시키며 특히 細胞性 免疫 기능을 회복 증진시키는데 유효한 효과를 지니고 있을 것으로 思慮된다. 앞으로 體液性 免疫 및 脾臟등의 다른 免疫器官에 미치는 影響에 대해서는 다양한 면역반응지표를 통한 비교 연구가 필요할 것으로 여겨진다.

V. 結 論

黃芪建中湯이 면역기능에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 MTX로 免疫機能低下가 유발된 흰쥐에게 黃芪建中湯 乾燥 엑기스를 증류수에 녹여서 투여한후 末梢血液내의 B 細胞率과 T 細胞率, 末梢血液과 脾臟내의 CD3+CD4+ T 細胞率과 CD3+CD8+ T 細胞率의 變化를 觀察하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 末梢血液내의 B 細胞率은 正常群, 對照群, 實驗群의 집단간 有意한 차이가 없었다.
2. 末梢血液내의 T 細胞率은 對照群이 正常群에 비하여 有意한 감소를 보였고, 實驗群은 對照群에 비하여 有意한 증가를 보였다.
3. 末梢血液내의 CD3+CD4+ T 細胞率은 對照群은 正常群에 비하여 유의한 감소를 보였고, 實驗群은 對照群에 비하여 유의한 증가를 보였다.
4. 末梢血液내의 CD3+CD8+ T 細胞率은 對照群은 正常群에 비하여 유의한 증가를 보였고, 實驗群은 對照群에 비하여 감소하는 경향을 보였다.
5. 末梢血液내의 CD4+/CD8+ T 細胞比率은 對照群은 正常群에 비하여 유의한 감소를 보였고, 實驗群은 對照群에 비하여 유의한 증가를 보였다.
6. 脾臟내의 CD3+CD4+ T 細胞率은 對照群은 正常群에 비하여 유의한 감소를 보였고, 實驗群은 對照群에 비하여 유의한 증가를 보였다.
7. 脾臟내의 CD3+CD8+ T 細胞率은 正常群, 對照群, 實驗群의 집단간 有意한 차이가 없었다.
8. 脾臟내의 CD4+/CD8+ T 細胞比率은 對照群은 正常群에 비하여 유의한 감소를 보였고, 實驗群은 對照群에 비하여 증가하는 경향을 보였다.

以上의 實驗結果로 보아 韓醫學에서 虛勞裏急, 諸不足등에 사용되어 온 黃芪建中湯이 MTX로 免疫機能의 低下가 유발된 흰쥐의 免疫機能을 回復, 增强시키는 效果가 있었으며, 앞으로 다양한 면역반응지표를 통한 비교연구가 필요할 것으로 思慮된다.

參考文獻

1. 최명애, 김주현, 박미정, 최스미 이경숙 공저. 生理學. 서울:현문사. 1997:113-4.
2. 전남대학교 의과대학 면역 및 알레르기학 편찬위원회. 면역 및 알레르기학. 광주:전남대학교 출판부. 1999:1-12.
3. 김주덕, 성인화 등. 로이트 必須免疫學. 서울:고문사. 1991:.1-34,.106-7.
4. 문희주, 권혁한. 基本免疫學. 서울:대학서림. 1996:13.
5. 박재갑. 인간생명과학. 서울:서울대학교 출판부. 1993:209-25.
6. 문은이 등. 당귀추출물이 면역계에 미치는 영향 II. 대한면역학회지. 1991;13(1):71-7.
7. 김일영, 이상재, 김광호. 何首烏가 methotrexate로 유도된 흰쥐의 免疫機能低下에 미치는 影響. 대한예방한의학회지. 2000;4(2):152-169.

8. 洪元植 編著. 精校黃帝內經素問. 서울: 東洋醫學研究院 出版部. 1998.
9. 文濬典, 安圭錫, 崔昇勳. 東醫病理學. 서울:高文社. 1993:118-21.
10. 國立編譯館. 金櫃要略註釋. 台北:正中書局. 1975:61.
11. 作者未詳. 神農本草經 卷一. 서울:翰林社. 1976:26.
12. 장경선. 인삼과 황기가 백서의 지연성과민반응 및 항체생성능에 미치는 영향. 원광대학교 대학원 석사학위논문. 1984.
13. Wang DY, Yang WY, Zhai SK, Shen ML. Effects of Astagalus polysaccharide of ribonuclecic acid metabolism, Acta Biochem Biophys Sin. 1980;12:343-48.
14. Chen LJ, Shen ML, Wang MY, Zhai SK, Liu MZ. Effects of Astagalus polysaccharide of phagocytic function in mice. Acta Pharmacol Sin. 1981;2: 200-4.
15. Wang DY, Li CY, Pong DW. Effects of Astagalus polysaccharide of RNase inhibitor, Acta Biochem Biophys Sin. 1984;16:285-90.
16. 윤한용. 소건중탕과 육공단이 백서의 성장발육에 미치는 영향. 대전대 대학원 석사학위논문. 2002.
17. 김태중, 이윤희, 최우석, 변준석, 박순달. 소건중탕가 용골 모려가 흰쥐의 실험적 위궤양에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2001;22(1):13-20.
18. 許浚原著. 東醫寶鑑. 서울:대성출판사. 1984:888.
19. 최명애, 김주현, 박미정, 최스미 이경숙 공저. 生理學. 서울:현문사. 1997:113-26.
20. 해리슨 번역 편찬위원회 편. HARRISON'S 내과학 II. 서울:정담. 1997:1665,1670.
21. 문희주, 권혁한. 基本免疫學. 서울:대학서림. 1996:54.
22. Hofman B. et al. Buspirone, a seortonin receptor agonist, increases CD4+ T-cell counts and modulates the immune system in HIV-seropositive subjects. AIDS. 1996;Oct. 10(12):1339-47.
23. Jarcos A. et al. Nurtitional status and immunocompetence in eating disorders. A comparative study. European J of Clinical Nurtition. 1993;47(11): 787-93.
24. Karina M. Butler et. al. CD4+ Status and P24 Antigenemia. AJDC. 1992; 146:932-6.
25. Klein S.L. et al. Social environment and steroid hormones affect species and sex differences in immune funtion among voles. Horm Behav. 1997;32(1):30-9.
26. Lacour M. et al. cAMP up-regulates IL-4 and IL-5 prodution from activated CD4+ T-cells whiles decreasing IL-2 release and NF-AT induction. Int Immunol. 1994;6(9):1333-43.
27. Robert E. Anderson et al. Use of β 2-microglobulin level and CD4+ lymphocyte count to predict development of AIDS in persons with HIV infection. Arch Intern Med. 1990;150: 73-7.
28. Aries S.P. et al. Fas(CD95) expression on CD4+ T-cell from HIV-

infected patients with diease progression. J Mol Med. 1995;73(12):591-3.

29. Chiappelli F. et al. Pituitary-Adrenal Immune system in normal subject and in patients with anorexia nervosa: The number of circulating helper T lymphocytes(CD4+) expressing the homing receptor Leu8 is regulated in part by pituitary-adrenal products. Psychoendocrinology. 1991;16(5):423-32.
30. de jong R. et al. Maturation and differentiation-dependent responsiveness of human CD4+ T-helper subsets. J Immunol. 1992;149(8):2795-802.
31. Everaus H. Hormones and immune responsiveness in chronic lymphocytic leukemia. Leuk Lymphoma. 1992;8(6):483-9.
32. Ferguson A. et al. Spectrum of expression of intestinal cellular immunity: proposal for a charge in dignostic criteria of celiac disease. Ann Allergy. 1993;71(1):29-32.
33. Maarten Koot et al. Prognostic Value of Hiv-1 Syncytium-inducing Phenotype for Rate of CD4+ T-cell Depletion and Progression to AIDS. Arch Int Med. 1993;118:681-8.
34. McDyer J.F. et al. Patients with multidrug-resistant tuberculosis with low CD4+ T-cell counts have impaired Th1 responses. J Immunol. 1997;158(1):492-500.
35. Stein D.S. Korvic J.A. Vermund SH. CD4+ lymphocyte cell enumeration for prediction of clinical course of human immunodeficiency virus disease: a revirw. J Infect Dis. 1992;165:352-63.
36. 金光赫 外 2人. 細胞分子免疫學. 서울: 正門閣. 1998:30.
37. 타다 토미오. 免疫의 意味論. 서울:한울. 1998:117-21.
38. 낙화생 箸 안덕균 易. 면역과 한방. 서울: 열린책들. 1998:19-20,46-7.
39. 洪元植 編著. 精校黃帝內經靈樞. 서울: 東洋醫學硏究院 出版部. 1998.
40. 鄭遇悅. 韓方病理學. 全州:三進社. 1988:15-7, 94-5.
41. 章育正. 虛症和實證病因的免疫狀態. 上海中醫藥雜誌. 1984;6:44-5.
42. 崔旼燮. 침구요법이 면역기능에 미치는 영향에 관한 고찰. 대한침구학회지. 1993;10(1):61-74.
43. 송윤희. 온침이 한냉에 노출된 생쥐의 면역기능저하에 미치는 영향. 경희대한의대 논문집. 1992;15:297-311.
44. 송윤희. 온침이 methotrexate를 투여한 생쥐의 면역반응저하에 미치는 영향. 경희대한의대논문집. 1989;12:301-13.
45. 길영성, 정승기, 이형구. 어성초 및 상국음이 면역기능에 미치는 영향. 대한한의학회지. 1995;16(1):298-318.
46. 하대유. 인삼에 대한 세포학 및 면역학적 연구(제Ⅲ보). 대한면역학회지. 1979;1(1):45-52.
47. 宋峰根, 李彦政, 金炯均, 陣善斗, 金成宰, 金東赫. 黃芪가 免疫細胞의 기능에 미치는 영향. 대한본초학회지. 1998;13(2):115-28.

48. 김덕호, 김병운. 歸茸湯이 면역반응에 미치는 영향. 대한한의학회지. 1985;6(2):55-63.
49. 李晟來 外3人. 鹿血生化湯이 마우스의 면역반응에 미치는 영향. 경희대한의대논문집. 1991;14:85-130.
50. 黃奎東 外3人. 十全大補湯 및 十全大補湯加 瓦松의 抗癌효과와 면역반응에 관한 연구. 대한한방종양학회지. 1996;2(1):1-24.
51. 洪律喜. 補中益氣湯과 香砂六君子湯의 병용투여가 S-180 復水癌細胞를 接種한 생쥐의 세포성 면역에 미치는 영향. 동국대학교 대학원. 서울. 1994.
52. 정연희, 이한철, 류동렬. 가미보아탕이 면역기능 증진효과에 미치는 영향. 대한한방소아과학회지. 1997;11(1):159-82.
53. 高敬錫 外2人. 인삼수침이 methotrexate를 투여한 생쥐의 면역기능저하에 미치는 영향. 경희대한의대논문집. 1988;11:37- 54.
54. 이재동. 녹용, 황기, 당귀수침이 방사선 피폭에 의한 면역기능저하에 미치는 영향. 경희대한의대논문집. 1993;17(2):119-40.
55. 裵元永, 高炯均, 金昌煥. 황기약침이 methotrexate를 투여한 생쥐의 면역기능저하에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1994;11(1):49-66.
56. 朴鎭雄 外2人. 농도차에 따른 황기약침이 methotrexate를 투여한 생쥐의 면역기능저하에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1994;11(1):67-81.
57. 金正憲, 朴히濬, 李香淑, 李惠貞. 보중익기탕, 인삼 및 황기 약침이 MTX로 유발된 백서의 면역기능저하에 미치는 영향. 대한약침학회지. 2000;3(2):79-97.
58. 최윤정. 四君子湯 및 四物湯이 methotrexate로 유발된 흰쥐의 면역기능저하에 미치는 영향. 동국대학교대학원 박사학위논문. 1996.
59. 이홍석 外5人. 봉독 약침자극이 methotrexate로 유발된 생쥐의 면역기능저하에 미치는 영향. 경희대한의대논문집. 347-359.
60. 홍사석. 이우주의 약리학강의. 서울:의학문화사. 1993:622, 646-8.
61. 대한임상약학회. 임상약리학총서 I 임상약학개론. 서울 : 희성출판사. 1991:180, 770.
62. 愼載鏞. 方藥合編解說. 서울:成輔社. 1988:48.
63. 汪昂. 醫方集解. 서울:大成文化社. 1984:340-3.
64. 張敬勳. 建中湯類의 效能에 관한 연구. 원광대학교대학원. 1989.
65. 박동일, 조인주. 황기건중탕 및 가미황기건중탕이 흰쥐의 운동 피로회복에 미치는 영향. 대한한의학회지. 1997;18(2):155-61.