

방사선에 대한 생약복합조성물(HemoHIM)의 재생조직 및 면역계 방호·회복촉진 효과

조성기^{1*}·박혜란¹·정우희¹·오 현¹·김성호²·이성태³

¹한국원자력연구소 방사선식품생명공학팀

²전남대학교 수의과대학

³순천대학교 생물학과

Protective Effect of a Herbal Preparation (HemoHIM) on the Self-Renewal Tissues and Immune System against γ -Irradiation

Sung-Kee Jo^{1*}, Hae-Ran Park¹, Uhee Jung¹, Heon Oh¹, Sung-Ho Kim² and Sung-Tae Yee³

¹Radiation Food and Biotechnology Team, Korea Atomic Energy Research Institute, Daejeon 305-353, Korea

²College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

³Dept. of Biology, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

Abstract

In our previous study, a novel herb mixture (HIM-I) of *Angelica gigas* radix, *Cnidium officinale* rhizoma, and *Paeonia japonica* radix was developed to protect the intestinal and immune systems and promote its recovery against radiation damage. In this study, a new herbal preparation (HemoHIM) with the high immune modulating activity was developed from HIM-I. HIM-I was fractionated into ethanol fraction (HIM-I-E) and polysaccharide fraction (HIM-I-P). And HemoHIM was prepared by adding HIM-I-P to HIM-I. The protective activities against γ -irradiation were compared among HemoHIM, HIM-I and the fractions. HemoHIM and HIM-I significantly decreased the radiation-induced DNA damage *in vitro*, and scavenged hydroxyl radicals in a dose-dependent manner. HemoHIM showed similar activity to HIM-I. *In vitro* proliferation assay with mouse lymphocytes and bone marrow cells showed that HIM-I-P was remarkably higher than HIM-I and HIM-I-E in cell proliferating activity. HemoHIM showed higher activity than HIM-I and this might be associated with the higher polysaccharide content. The *in vivo* protective effects of HemoHIM and HIM-I were investigated in γ -irradiated mice. HemoHIM increased the surviving intestinal crypts to a similar extent compared with HIM-I. In contrast, HemoHIM appeared to be more effective than HIM-I in endogenous spleen colony formation assay. The recovery of white blood cells and lymphocytes in irradiated mice were significantly enhanced by the administration of HemoHIM. Also HemoHIM administration prolonged the survival of irradiated mice. These results showed that the novel herbal preparation, HemoHIM, effectively protected the self-renewal tissues and immune system, and promoted the survival of irradiated mice. Moreover, in comparison with HIM-I, HemoHIM maintained similar activity in the reduction of oxidative damage of self-renewal tissue but exhibited the higher activity in protection and proliferation of immune and hematopoietic cells. These results suggested that HemoHIM might be more effective than HIM-I in immune modulation as well as radioprotection.

Key words: radioprotection, immune, hematopoiesis, self-renewal tissue, *Angelica gigas* Nakai

서 론

현대의학의 발전에 따라 각종 질병에 대한 기전이 밝혀지고 질병치료를 위한 의약품이 개발되어 응용되고 있다. 그러나 아직도 많은 질병의 경우 효과적인 의약품이 개발되지 않았거나 약물의 지속적인 사용에 따른 부작용이 나타나는 등 질병치료에 있어 많은 한계점이 나타나고 있다. 따라서 독성이 적으면서 효과가 입증된 천연물에 의한 대체요법을

통한 치료와 질병의 예방을 위한 건강식품 개발의 필요성이 증가되고 있다. 천연물에 의한 처방은 동아시아와 일부 유럽에서 응용되고 있으며, 동양에서는 한의학의 처방에 따라 여러 종류의 생약을 혼합하여 열탕 추출 후 건조 분말을 사용하기도 한다. 이러한 한약처방제는 여러 종류의 급·만성 질병의 치료에 대한 효능은 일부 알려져 있으나 이들의 약리학적 작용기전 또는 성분이 명확히 밝혀져 있지 않으며, 최근에 이와 관련된 연구가 활발히 진행되고 있다.

*Corresponding author. E-mail: skjo@kaeri.re.kr
Phone: 82-42-868-8063, Fax: 82-42-868-4734

한편, 최근 질병의 진단 및 치료에 방사선 및 방사성 동위원소의 이용이 증가하고 있고, 또한 산업적으로도 방사선의 이용이 확대되고 있다. 이에 따라 방사선 이용의 부작용 또는 방사선에 전신이나 국소장기가 노출되는 경우에 일어나는 방사선 장애에 대한 관심이 높아지고 있다. 따라서 방사선에 의한 생체손상의 예방 및 경감을 위한 방호제의 개발이 중요한 문제로 대두되고 있다(1,2).

방사선에 의한 생체손상은 DNA, 단백질, 지질 등의 생체고분자가 방사선의 고에너지에 의하여 직접적으로 파괴되거나 생체내의 물분자의 이온화로 생성된 라디칼, 특히 수산화라디칼($\cdot\text{OH}$)에 의하여 손상을 받음으로써 나타난다(3). 소화기계, 면역조절계 등 재생조직은 방사선에 의한 생체손상에 민감하여 방사선에 의한 급성 장애는 이들 재생조직의 손상에 의해 나타난다(4-6). 따라서 방사선에 의한 부작용을 효과적으로 감소시키기 위해서는 방사선에 의한 재생조직의 손상을 억제시키고 동시에 손상된 재생조직의 회복을 증진시키는 것이 필수적이다. 방사선에 의한 생체손상을 억제하기 위한 방호제로서 WR-2721 등의 thiol기를 갖는 합성물질과 G-CSF 등 면역조절조절인자에 대한 연구가 많이 이루어졌다(7-11). 그러나 이들 합성물질들은 방사선에 의한 산화적 조직 손상억제에만 주안점을 두고 있고 독성이 강하며, 면역조절조절인자의 경우 부작용이 많고 고가여서 실제 적용에는 많은 한계를 나타내고 있다. 이에 따라 일본, 미국을 중심으로 독성이 적은 천연물을 이용한 방사선 방호제 개발 연구가 많이 이루어지고 있다(12-19). 한편, 생체의 산화적 손상과 면역조절기능 저하는 방사선에 의한 부작용의 원인일 뿐 아니라 다양한 만성 질환의 원인이 된다는 점에서 방사선 방호효과가 있는 소재는 다양한 용도로 활용될 수 있을 것으로 기대되고 있다.

본 연구팀에서는 동양의학에서 사용되고 있는 다양한 생약재 및 한약처방제의 방사선에 대한 보호효과를 보고한 바 있으며(20-27), 당귀, 천궁, 백작약 3종의 생약재를 이용하여 방사선으로부터 위장관 및 면역조절계를 보호함과 동시에 면역조절기능을 증진시키는 새로운 생약복합물 HIM-I를 개발한 바 있다(28). 방사선 생체손상의 방호 및 회복을 위해서는 일차적인 조직의 방호뿐만 아니라 이차적인 면역조절계의 회복촉진이 더욱 중요하고 면역조절기능이 다양한 생체질환의 예방 및 개선에 중추적인 작용을 한다. 이러한 관점에서, 본 연구에서는 HIM-I로부터 면역조절증진 효능이 더욱 강화된 새로운 생약복합조성물을 개발하고자 HIM-I에 그 조다당 분획이 첨가된 HemoHIM을 제조하였으며, 그 효능을 검증하고자 하였다.

재료 및 방법

생약복합조성물(HemoHIM) 및 분획의 제조

서울 경동 한약재 시장에서 구입한 생약재 3종 즉, 당귀

(Danggui, *Angelica gigas* Nakai)의 뿌리, 천궁(*Chuanxiong*, *Cnidium officinale* Makino)의 근경, 백작약(*Baishao*, *Paeonia japonica* Miyabe)의 뿌리를 동일한 무게비율로 혼합한 후, 혼합 생약재 100 g당 증류수 1000 mL을 가하고 4시간 열탕 추출하였다. 추출물의 고형분을 제거하고 감압농축하여 생약복합물 HIM-I을 얻었다. HIM-I의 일부를 취하여 4배 부피의 100% 에탄올 주정을 첨가하고 25°C 이하에서 16시간 정치한 후, 원심분리하여 침전된 조다당 분획(HIM-I-P)과 상층의 에탄올 분획(HIM-I-E)을 수거하였다. 수거한 조다당 분획의 일부를 이에 해당하는 HIM-I에 첨가하여 생약복합조성물 HemoHIM을 제조하였다. HIM-I, HIM-I-E, HIM-I-P, HemoHIM은 동결건조하여 냉동 저장하였으며, 실험 직전에 증류수에 녹여 사용하였다.

실험동물

소장염(intestinal crypt) 생존 시험 및 30일 생존율 시험에서는 7주령의 암컷 ICR 마우스를 사용하였으며, 내재성 비장집락형성시험에는 7주령의 수컷 ICR 마우스를 사용하였다. 혈액세포 재생성 시험에서는 7주령의 암컷 C57BL/6 마우스를 사용하였다. 마우스는 대한바이오링크(주)에서 구입하여, 사육실 온도를 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 로, 습도를 55~60%로 유지시키고 명암순환이 12시간 단위로 조절되는 표준 사육방법으로 사육하였으며, 고형사료와 음수는 자유로이 공급하였다.

세포배양

실험에 사용한 세포배양액은 RPMI(Rosewell Park Memorial Institute) 1640 배지(pH 7.4)에 2 mg/mL sodium bicarbonate, 20 mM HEPES, 100 U/mL penicillin, 100 µg/mL streptomycin, 2 mM L-glutamine, 1 mM pyruvate, 1% non-essential amino acid 및 10% 또는 20%의 우태아혈청(FBS; fetal bovine serum)을 첨가한 완전배지를 사용하였으며, 세포배양은 5% CO₂, 37°C 포화습도 조건의 세포배양기에서 수행하였다. 모든 시약은 GIBCO BRL(Praisley, UK)에서 구입하였으며, 다만 2-mercaptoethanol은 Sigma-Aldrich Co.(USA)에서 구입하여 사용하였다.

방사선조사

방사선조사는 한국원자력연구소 소재 저준위 감마선 조사시설(Panoramic Co-60, UKAEA, UK)에서 Co-60 감마선을 1 Gy/분의 선량율로 조사하였다. 소장염 생존시험에서는 12 Gy, 내재성 비장집락형성 시험에서는 6.5 Gy, 혈액세포 재생성 시험에서는 4 Gy, 생존시험에서는 8 Gy의 감마선을 마우스에 전신조사하였으며, DNA 손상 측정시험에서는 2 Gy의 감마선을 림프구 부유액에 조사하였다.

단세포 전기영동법(single-cell gel electrophoresis; SCGE, comet assay)

시료처리 및 DNA 손상 유발 : 마우스의 말초혈액을 취하여 Ficoll-Histopaque gradient 방법으로 림프구를 분리

하고 Hanks' balanced salt solution(Sigma-Aldrich Co., USA)으로 2회 수세후 10% FBS를 포함한 RPMI 1640 완전 배지에 부유시켰다. 분리된 림프구는 시료를 400 µg/mL 농도로 처리 후 3시간 배양한 다음 2 Gy의 감마선을 조사하였다. 감마선이 조사된 림프구는 DNA 수복을 차단하기 위하여 전기영동을 시행하기 전까지 4°C로 유지하였다.

슬라이드 준비 및 전기영동: Singh 등(29)의 방법에 따라 림프구를 low melting agar(Life Technologies, Inc., USA)에 부유시킨 후 슬라이드에 도말하였으며, 전기영동은 알칼리 조건에서 수행하였다.

염색 및 관찰: 슬라이드를 건조시킨 후 60 µL의 ethidium bromide(20 µg/mL)로 염색하였다. CCD 카메라가 부착된 형광현미경(Leica, Germany)을 사용하여 515~560 nm의 excitation filter와 590 nm의 barrier filter에서 대물렌즈 40배의 배율로 관찰하였다. 세포의 DNA 손상정도를 이미지 분석프로그램(Komet 4.0, Kinetic Imaging Ltd., UK)을 통해 60개의 세포를 무작위로 선택하여 분석하였다. DNA 손상정도는 tail 길이와 tail 내 DNA 파편을 수치화시킨 tail moment(TM)로 나타내었으며, TM 값이 증가할수록 DNA가 손상을 많이 받은 것을 의미한다.

수산화 라디칼 소거 활성 측정(2-deoxyribose 산화법)

시료의 수산화라디칼(hydroxyl radical, ·OH) 소거활성은 2-deoxyribose oxidation 방법으로 측정하였다(30). 시험관에서 0.1 mM FeSO₄/EDTA 용액 0.2 mL, 10 mM 2-deoxyribose 0.2 mL, 각기 다른 농도 시료액 0.2 mL과 0.1 M phosphate buffer(pH 7.4) 1.2 mL를 가하고, 10 mM H₂O₂ 0.2 mL을 가하여 반응을 개시시켰다. 37°C 수욕조에서 4시간 반응시킨 후 2.8% TCA(trichloroacetic acid) 용액 1 mL을 가하여 반응을 중지시키고, 1% TBA(2-thiobarbituric acid)용액 1 mL를 가하여 95°C에서 10분간 중탕한 후 냉각하고 UV-분광광도계를 이용하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 수산화 라디칼 소거활성은 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소차이를 백분율로 나타내었다.

$$\text{Hydroxyl radical scavenging activity (\%)} = 1 - \left(\frac{A_s - A_o}{A_c - A_o} \right) \times 100 (\%)$$

A_o: 시료와 H₂O₂를 첨가하지 않은 정상대조구의 흡광도

A_c: 시료를 첨가하지 않은 H₂O₂ 처리대조구의 흡광도

A_s: 시료를 첨가한 H₂O₂ 처리구의 흡광도

시험관내 림프구의 활성화 효과 측정

비장 림프구의 활성화 효과는 [³H]-thymidine incorporation 방법으로 측정하였다(31). 마우스로부터 분리한 림프구를 10%의 FBS가 포함된 RPMI 배지에 부유시킨 후 96-well plate에 분주하였다(2×10⁵ cells/200 µL/well). 시료를 배양액에 첨가한 후 세포배양기(37°C, 5% CO₂)에서 3일간 배양하였다. [methyl-³H]-Thymidine(Amersham Biosci-

ences, Ltd., UK)를 배양액에 첨가하고(1.5 µCi/well) 4시간 동안 추가로 배양하였다. Cell harvester(Inotech, Switzerland)를 이용하여 세포를 glass fiber filter strip에 수거한 후 liquid scintillation counter를 이용하여 incorporation된 [³H]-thymidine의 양을 측정하였다.

시험관내 골수세포의 성장촉진 효과 측정

골수세포는 마우스의 대퇴골로부터 분리하여 사용하였다. 골수세포를 20% FBS가 포함된 RPMI 1640 완전배지에 부유시킨 후 12-well plate에 well(2 mL) 당 1.7×10⁶개의 골수세포가 포함되도록 분주하였다. 세포 배양액에 시료를 첨가한 후 세포배양기에서 10일간 배양한 후, trypan blue로 염색하여 살아있는 부착성 세포수를 계수하였다.

소장암(intestinal crypt) 생존시험

고선량 방사선(12 Gy)에 대한 방호효과 관찰을 위한 시험 모델로서 소장암 생존시험을 Withers와 Elkind(32)의 방법에 따라 수행하였다. 각 실험군당 6마리의 마우스를 사용하였으며, 12 Gy의 방사선 조사후 3.5일에 동물을 희생시켜 소장부위를 채취하고 각 마우스당 8개의 절편을 통상적인 방법에 따라 파라핀 포매하여 조직 슬라이드를 제작하였다. 각 마우스당 8개의 종절된 소장 표본의 가장자리에 위치하는 소장암의 수를 광학현미경으로 측정하고 실험군별 평균 및 편차를 산정하였다.

내재성 비장 조혈세포집락(endogenous spleen colony) 형성시험

중간선량의 방사선(6.5 Gy)에 대한 면역조혈계 방호 효과 측정을 위한 시험모델로서 내재성 비장 조혈세포 집락형성 시험을 수행하였다. 각 실험군당 9마리의 마우스를 사용하였으며, 6.5 Gy의 방사선 조사후 9일 또는 10일에 마우스를 희생시켜 비장을 채취하여 Bouin 용액에 고정하고 표면에 형성된 조혈세포 집락을 실체현미경으로 관찰하였다(33).

혈액내 면역세포 재생성 측정 시험

중간선량의 방사선(4 Gy) 조사 후 면역세포 회복 증진 효과 측정을 위한 시험모델로서 백혈구수 및 림프구수의 회복시험을 수행하였다. C57BL/6 마우스를 방사선 조사전 36 및 12시간과 조사후 30분 및 24시간 후에 시료를 복강 투여(300 mg/kg B.W.)하였다. 방사선조사(4 Gy) 후 3, 7, 14, 21, 35, 48일 후에 마우스의 안와정맥으로부터 혈액을 채취하여 항응고제(EDTA)가 포함된 채혈 tube에 담았다. 혈액 내 림프구 및 백혈구수는 혈액학적 분석기(HEMAVET 850+, CDC Technologies Inc., USA)를 이용하여 측정하였다. 각 그룹당 6마리의 마우스로부터 얻어진 평균치를 사용하였다.

마우스의 생존 시험

방사선에 대한 방호효과를 종합적으로 평가하기 위한 지표로 방사선조사 마우스의 생존시험을 수행하였다(34). 7주

령의 암컷 ICR 마우스를 각 시험군당 20마리씩으로 하여 정상대조군, 방사선조사대조군, 경구투여군, 복강투여군으로 나누었다. 경구투여의 경우 시료를 음용수에 1 mg/mL로 희석하여 방사선 조사 7일전부터 개체 사망시 또는 실험 종료시까지 투여하였으며, 복강투여의 경우 방사선 조사전 36, 12시간과 조사후 30분, 24시간에 시료를 복강내에 주사하였다(25 mg/kg B.W.). 8 Gy의 방사선을 마우스에 전신조사한 후 30일간 매일 그룹별 생존개체수를 확인하여, 30일후의 생존율과 평균 생존기간을 산출하였다.

통계 분석

실험군간 차이에 대한 유의성 검정은 Student's *t*-test와 Chi-square test를 수행하여 분석하였으며, 분석 프로그램으로는 SPSS 7.0 for windows(SPSS Inc., USA)를 사용하였다.

결과 및 고찰

생약복합조성물 및 분획 제조

방사선에 의한 부작용을 극복하기 위해서는 방사선에 민감한 재생조직 및 면역조혈계를 보호하고 그 회복을 촉진시키는 것이 중요하다. 기존의 연구에서 인삼(35,36), 천궁(37), 당귀(38), 가시오가피(15) 등 단일 생약재와 십전대보탕(21, 39), 사물탕(26,27,40), 귀비탕(22,41) 등의 한약처방제의 방사선에 대한 보호효과가 보고되었다. 본 연구팀에서는 기존의 생약재 및 한약처방제 중에서 방사선 방호효과 및 면역조혈기능 증진효과 검색을 통하여 효과가 뛰어난 생약재 조합(당귀, 천궁, 백작약)을 선발하여 생약복합물 HIM-I를 개발하였다(28). 당귀, 천궁, 백작약 각각은 방사선으로부터 재생조직의 보호 효과, 항산화 효과, 또는 면역세포활성화 효과가 있다고 단편적으로 보고되었다(37,38,42-44). 본 연구에서는 방사선 생체손상의 방호 및 회복에 있어서 일차적인 조직의 방호뿐만 아니라 동시에 면역조혈계의 회복이 더욱 중요하며, 면역조혈기능 조절물질은 질환의 예방 또는 개선에 직접·간접적으로 작용함에 따라 질환을 원천적 예방할 수 있다는 관점에서 HIM-I의 면역조혈기능을 더욱 증대시키고자 HIM-I에 조다당 분획을 배가한 생약복합조성물 HemoHIM을 개발하였으며, HemoHIM과 HIM-I 및 그 분획의 효능을 비교 검토하였다.

당귀, 천궁, 백작약 등 생약재 3종의 혼합물을 열탕추출하여 HIM-I을 얻고, 에탄올 침지를 통하여 에탄올 분획(HIM-I-E) 및 조다당 분획(HIM-I-P)을 얻었다. 여러 식물추출물의 조다당 분획이 면역조혈증진에 효과가 뛰어나기 보고된 바 있고(16,42,44), 본 연구에서 조다당 분획의 높은 면역조혈증진 효과에 대한 실험 결과를 토대로 면역조혈기능을 증대하기 위하여 HIM-I에 조다당 분획을 첨가한 생약복합조성물 HemoHIM을 제조하였다.

방사선에 의한 DNA 손상 억제 및 수산화 라디칼 소거 효과

DNA의 손상은 방사선에 의한 재생조직 및 면역조혈계 손상의 주원인이 되며, 물분자가 방사선에 의해 이온화되어 발생하는 수산화라디칼이 DNA를 포함한 생체분자의 손상을 불러일으킨다고 보고되었다(3). 따라서 방사선에 의한 DNA 손상 억제효과를 평가하기 위하여 HemoHIM과 HIM-I 및 그 분획의 림프구 DNA 손상 억제효과와 수산화라디칼 소거효과를 비교 검토하였다. 방사선을 조사한 림프구의 DNA 손상정도를 단세포전기영동법으로 관찰한 결과(Fig. 1), 2 Gy의 감마선 조사에 의해 림프구의 DNA 손상이 크게 증가하였다. 그러나 시료를 처리한 상태에서 감마선을 조사한 경우, DNA 손상이 유의적으로 감소되었다($p < 0.05$). HemoHIM, HIM-I 및 분획 간에는 DNA 손상 감소 효과에 유의적인 차이를 관찰할 수 없었다. 한편, 방사선에 의한 생체손상의 주요 요인인 수산화 라디칼에 대한 소거 활성을 살펴본 결과, HemoHIM, HIM-I 및 각 분획은 농도 의존적으로 수산화 라디칼 소거활성을 나타내었다(Fig. 2). 분획 중에는 에탄올 분획의 활성이 조다당 분획 활성보다 높게 나타났다. HemoHIM은 HIM-I에 활성이 낮은 조다당 분획을 첨가하여 제조하였음에도 불구하고 HIM-I와 비슷한 높은 활성을 나타내었다. 따라서 본 실험결과 HemoHIM은 방사선에 의한 DNA 손상을 억제하고 수산화라디칼을 소거하는 효과를 보였으며, HIM-I와 비슷한 높은 활성을 유지하였다.

면역세포 활성화 및 골수세포 성장촉진 효과

방사선 조사후 생체 내에서는 방사선에 민감한 면역세포 및 조혈세포수가 크게 감소되며, 방사선 조사후 회복에 있어

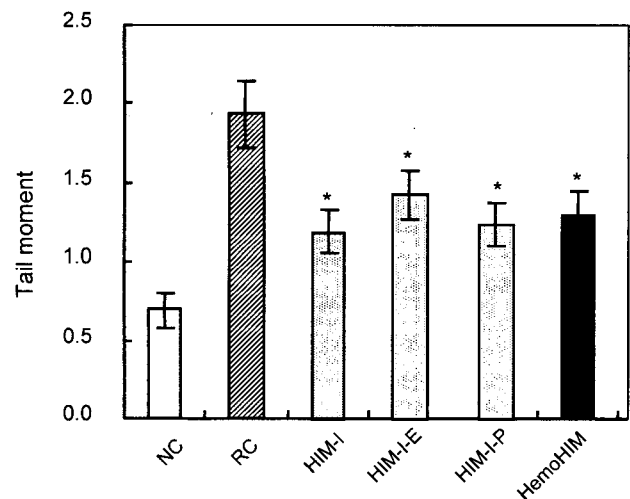


Fig. 1. Inhibitory effects of HemoHIM and its fractions on radiation-induced DNA damage.

Lymphocytes isolated from mouse peripheral blood were irradiated with 2 Gy of γ -ray in the absence or presence of samples (400 μ g/mL). The extent of DNA damage was measured by alkaline single cell gel electrophoresis (mean \pm SE). NC, normal control; RC, irradiation control. * $p < 0.05$ as compared with irradiation control.

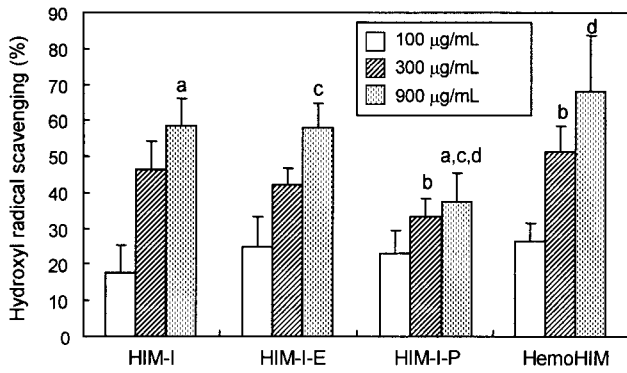


Fig. 2. Hydroxyl radical scavenging activity of HemoHIM and its fractions.

The hydroxyl radical scavenging activity was measured in triplicates by 2-deoxyribose oxidation method (mean ± SD). Values at the same concentration of the samples are compared, and those with same alphabet letters are significantly different ($p < 0.05$, Student's *t*-test).

서 이들 세포수의 회복 및 성장이 중요한 요인이 된다(5,6). 따라서 HemoHIM, HIMO-I 및 그 분획이 면역세포의 활성화와 조혈세포의 성장에 어떠한 영향을 미치는지 살펴보았다(Fig. 3). 림프구 증식능 측정을 통한 면역세포 활성화 시험에서는 조다당 분획이 가장 높은 활성을 나타내었으며, 에탄올 분획은 그 활성이 현저히 낮게 나타났다(Fig. 3A). HemoHIM은 조다당 분획보다는 활성이 약간 낮았으나, HIMO-I에 비해서는 그 활성이 훨씬 높게 나타났다. 골수세포를 이용한 조혈세포 성장촉진 시험에서도 조다당 분획이 가장 높은 효과를 나타내었고 에탄올 분획이 가장 낮은 효과를 나타내었다(Fig. 3B). 또한 HemoHIM은 조다당 분획보다는 낮았으나 HIMO-I보다는 높은 효과를 나타내었다. 이러한 결과로부터 조다당 분획이 면역세포의 활성화와 조혈세포 성장촉진 효과

가 높으며, 조다당 분획을 첨가한 HemoHIM이 HIMO-I보다 더 높은 면역조혈 세포 활성화 효과를 나타냄을 알 수 있었다.

재생조직(소장음) 방호효과

소장음은 방사선에 민감한 재생 조직으로서, 방사선에 의한 산화적 생체손상을 측정하는 대표적인 지표로 이용되어지고 있으며, 방사선에 대한 생체방호에 있어서 소장음 등의 소화기관 재생조직 손상의 억제 및 회복이 중요한 요건의 하나로 받아들여지고 있다(45-47). 본 실험에서는 각 분획의 기여도를 알아보기 위해 HIMO-I와 그 분획을 수율비에 따라 투여한 실험(experiment 1)과 HemoHIM의 투여방법을 달리하여 투여한 실험(experiment 2)을 독립적으로 수행하였다. Table 1에 나타난 바와 같이 experiment 1과 experiment 2 모두 정상대조군에서는 소장의 circumference 당 평균 약 160개 정도의 소장음이 관찰되었으나, 12 Gy의 방사선만을 조사한 방사선대조군의 경우에는 10~20개의 소장음이 관찰되어 방사선 조사에 의해 소장음의 생존율이 현저히 저하되었다. Experiment 1에서 HIMO-I와 에탄올 분획을 복강 투여한 후 방사선을 조사한 그룹에서는 방사선 대조군에 비해 유의적으로 생존 소장음의 수가 1.6~1.9배 증가하였으며, 조다당 분획을 투여한 그룹에서는 통계적으로 유의성을 보이지는 않았으나 증가하는 경향을 나타내었다. 이로부터 소장음의 생존에 에탄올 분획이 가장 크게 기여함을 알 수 있었다. Experiment 2에서 HemoHIM을 방사선 조사전 또는 조사후에 복강 투여시 생존 소장음이 각각 2.4배와 2.0배 증가하였으며($p < 0.05$), 경구 투여한 경우에도 증가하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과로부터 방사선에 의한 소장 내 조직손상을 경감시키는 효과가 있어서 HemoHIM은 HIMO-I이나 분획들과 비교하여 비슷하거나 높은 효과를 나타냄을 알 수 있었다.

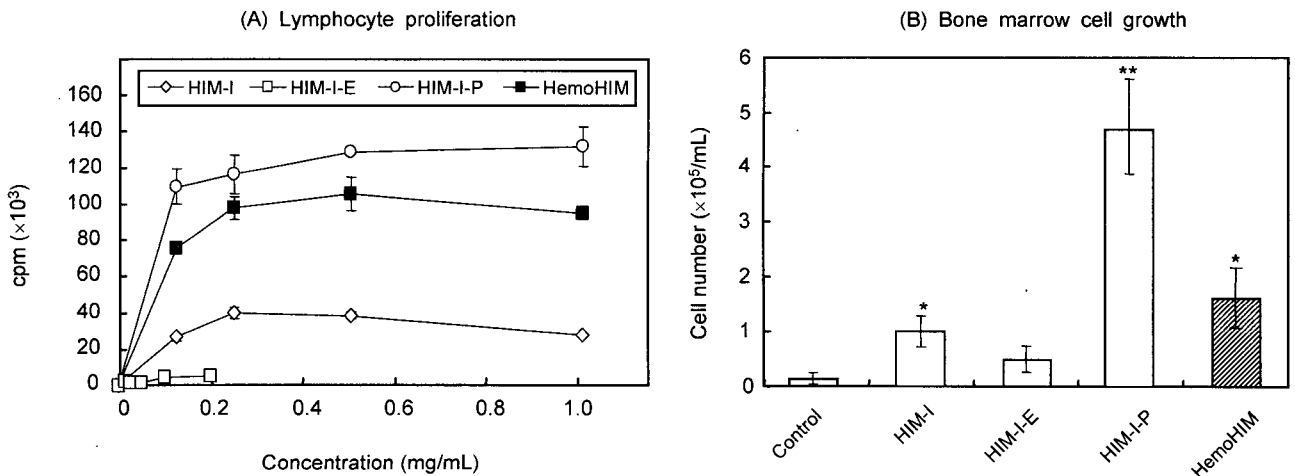


Fig. 3. Effects of HemoHIM and its fractions on lymphocyte proliferation and bone marrow cell growth. (A) Mouse lymphocytes were cultured in the presence of samples for 3 days, and their proliferation was measured by [³H]-thymidine incorporation (mean ± SD). (B) Mouse bone marrow cells (8.5×10^5 cells/mL) were cultured in the absence or presence (100 µg/mL) of samples for 10 days and the total numbers of adherent cells were counted (mean ± SD). * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ as compared with control (Student's *t*-test).

Table 1. Effects of HemoHIM and its fractions on the intestinal crypt survival in irradiated mice

	Group (N=6)	Crypt per circumference (mean ± SD)
Experiment 1	Untreated control	157.25 ± 6.05
	Irradiation control (12 Gy)	21.29 ± 9.71
	HIM-I (50 mg/kg B.W.) ¹⁾ + irradiation	35.12 ± 11.00*
	HIM-I-E (41 mg/kg B.W.) ¹⁾ + irradiation	39.47 ± 9.84*
	HIM-I-P (9 mg/kg B.W.) ¹⁾ + irradiation	26.04 ± 18.90
Experiment 2	Untreated control	158.52 ± 9.26
	Irradiation control (12 Gy)	10.75 ± 7.45
	HemoHIM (50 mg/kg B.W.) ¹⁾ + irradiation	26.17 ± 10.79*
	HemoHIM (2 mg/mL of drinking water) ²⁾ + irradiation	18.27 ± 14.11
	Irradiation + HemoHIM (50 mg/kg B.W.) ³⁾	21.42 ± 7.05*
	Irradiation + HemoHIM (2 mg/mL of drinking water) ⁴⁾	14.83 ± 6.09

¹⁾Samples were given i.p. at 36 and 12 hr before irradiation.

²⁾Sample was given p.o. for 7 days before irradiation.

³⁾Sample was given i.p. at 30 min and 24 hr after irradiation.

⁴⁾Sample was given p.o. for 3 days after irradiation.

The mice were sacrificed on day 3.5 after irradiation.

*p<0.05 as compared with irradiation control group (Student's *t*-test).

면역조혈계 방호 및 회복촉진 효과

방사선이 조사된 생체에서는 말초혈액 및 말초 림프기관 내의 면역세포수가 급격히 감소되며, 감소된 면역세포의 재생성시 골수내의 조혈모세포가 말초 림프기관으로 이동하여 증식한다. 이때 비장 내에는 조혈모세포의 증식에 의한 집락이 형성되며, 방사선 조사후 비장에서 형성된 집락의 수는 조혈모세포의 방호 및 재생성 능력의 지표로 사용되어 지고 있다(48). 본 실험에서는 각 분획의 기여도를 알아보기 위해 HIM-I과 그 분획을 수율비에 따라 투여한 실험(experiment 1), HemoHIM의 투여 방법을 달리하여 투여한 실험(experiment 2), 그리고 HemoHIM을 용량별로 강제 경구 투여(intubation)한 실험(experiment 3)을 독립적으로 수행

하였다(Table 2). Experiment 1에서 HIM-I 및 분획의 효과를 살펴본 결과 조다당 분획이 비장집락수를 5배 이상 증가시켜 가장 높은 효과를 나타냈으며(p<0.005), HIM-I 및 에탄올 분획도 유의적으로 비장집락수를 증가시켰다(p<0.05). 한편 experiment 2에서 HemoHIM의 투여 방법에 따른 효과를 살펴본 결과, HemoHIM을 방사선 조사전 복강 투여하였을 때 비장집락수가 약 4.5배 증가하여 가장 효과가 뛰어났으며(p<0.05), 방사선 조사후 복강 투여한 경우에도 유의적인 증가효과가 나타났다(p<0.05). 음용수를 통하여 HemoHIM을 경구투여한 경우에는 유의적이지는 않았으나 증가하는 경향을 나타내었다. Experiment 1과 2를 비교하였을 때 HemoHIM은 HIM-I보다 조혈세포 집락형성 증가효과가 뛰

Table 2. Effects of HemoHIM and its fractions on the endogenous spleen colony formation in irradiated mice

	Group (N=9)	Number of colonies (mean ± SD)
Experiment 1	Irradiation control (6.5 Gy)	2.67 ± 3.24
	HIM-I (50 mg/kg B.W.) ¹⁾ + irradiation	8.22 ± 6.74*
	HIM-I-E (41 mg/kg B.W.) ¹⁾ + irradiation	11.09 ± 10.13*
	HIM-I-P (9 mg/kg B.W.) ¹⁾ + irradiation	14.22 ± 9.74**
Experiment 2	Irradiation control (6.5 Gy)	2.50 ± 3.29
	HemoHIM (50 mg/kg B.W.) ¹⁾ + irradiation	11.33 ± 9.47*
	HemoHIM (2 mg/mL of drinking water) ²⁾ + irradiation	5.22 ± 7.55
	Irradiation + HemoHIM (50 mg/kg B.W.) ³⁾	9.11 ± 7.62*
	Irradiation + HemoHIM (2 mg/mL of drinking water) ⁴⁾	3.75 ± 0.52
Experiment 3	Irradiation control (6.5 Gy)	5.20 ± 2.73
	HemoHIM (100 mg/kg B.W.) ⁵⁾ + irradiation	10.92 ± 7.62*
	HemoHIM (200 mg/kg B.W.) ⁵⁾ + irradiation	9.94 ± 5.83*
	HemoHIM (400 mg/kg B.W.) ⁵⁾ + irradiation	10.20 ± 6.03*

¹⁾Sample was given i.p. at 36 and 12 hr before irradiation.

²⁾Samples were given p.o. by drinking water for 7 days before irradiation.

³⁾Sample was given i.p. at 30 min and 24 hr after irradiation.

⁴⁾Sample was given p.o. for 9 days after irradiation.

⁵⁾Sample was given p.o. daily by intubation from 3 days before irradiation to 9 days after irradiation.

The mice were sacrificed on day 9 after irradiation in Experiment 1 and 2, or on day 10 after irradiation in Experiment 3.

*p<0.05, **p<0.005 as compared with irradiation control group (Student's *t*-test).

어난 것으로 나타났다. 한편, experiment 3에서 HemoHIM을 용량에 따라 강제 경구투여(100~400 mg/kg B.W.)한 결과, 방사선조사대조군에 비하여 비장집락수가 유의적으로 약 2배 증가하였다($p < 0.05$). 따라서 HemoHIM은 방사선 조사 마우스에서 조혈모세포의 방호와 재생성을 촉진시키는 효과가 뛰어남을 알 수 있었다.

방사선 조사후에는 말초혈액내의 면역세포수가 급격히 감소하며, 면역세포의 재생성에 의한 면역세포수의 회복은 방사선조사 후 회복에 중요한 역할을 한다(49). 따라서 준치사량(4 Gy)의 방사선조사 후의 면역세포수의 회복에 있어서 HemoHIM이 미치는 영향을 살펴보고자 말초혈액내의 백혈구수와 림프구수를 관찰하였다(Fig. 4). 방사선조사 대조군에서는 방사선조사 3일 후 백혈구수와 림프구수가 정상대조군의 20% 이하로 급격히 감소하였으며, 그 후 서서히 회복되어 방사선조사후 48일 째에 방사선 조사전 수치로 회복되는 것을 관찰하였다. HemoHIM을 투여한 그룹에서는 방사선 조사후 14일까지는 방사선조사대조군과 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 21일 및 35일째에는 급격히 회복되어 방사선 조사전의 수치로 회복되었다. 이러한 결과는 HemoHIM

이 방사선조사후 면역세포수의 회복을 촉진시키는 효과가 있음을 보여주었다.

방사선조사 마우스의 생존 증진 효과

동물이 고선량의 방사선에 노출된 경우 신경계와 심혈관계의 손상으로 수시간 내에 사망에 이르며, 준치사량의 방사선에 노출된 경우에는 위장관 및 면역조혈계 재생조직의 손상으로 수일에서 수 주 내에 사망에 이르게 된다(50). 따라서 본 실험에서는 위장관과 면역조혈계 보호효과를 종합적으로 평가하기 위하여 준치사량(8 Gy)의 방사선이 조사된 마우스의 생존에 HemoHIM이 미치는 영향을 관찰하였다(Table 3). 방사선조사 대조군에서는 30일후 생존율이 10%를 나타내었으나, 복강 투여군에서는 40%의 생존율을 나타내어 유의적인 생존율 증가가 관찰되었으며($p < 0.05$), 경구투여군은 35%가 생존하여 생존율의 증가 경향이 관찰되었다. 또한 복강투여군은 방사선조사 대조군에 비해 평균 생존기간이 유의적으로 증대되었으며($p < 0.05$), 경구 투여군에서는 유의적이지는 않았으나 생존기간이 증대되는 경향이 관찰되었다. 본 시험에서 HemoHIM 투여시 방사선조사 마우스의 생존이 증대된 것은 Table 1, 2 및 Fig. 4에서 제시된 바와 같이

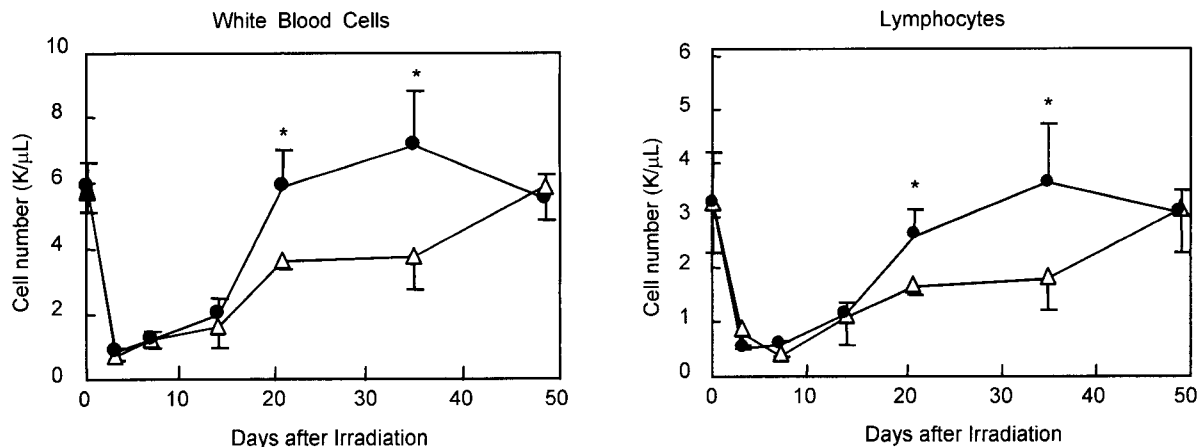


Fig. 4. Effects of HemoHIM on the regeneration of white blood cells and lymphocytes after irradiation (4 Gy). C57BL/6 mice were i.p. administered with saline or HemoHIM (300 mg/kg B.W.) at 36 and 12 hr before and 30 min and 24 hr after irradiation (4 Gy). At 3, 7, 14, 21, 35 and 48 days after irradiation, whole blood samples were collected, and the numbers of white blood cells and lymphocytes were counted by automatic hematological analyzer (mean \pm SD). * $p < 0.05$ as compared with the irradiation control group (Student's *t*-test). \triangle — Irradiation control, \bullet — HemoHIM (300 mg/kg B.W.).

Table 3. Effect of HemoHIM administration on the survival of irradiated mice

Group (N=20)	30-day survival rate (%)	Mean survival time (days, mean \pm SD)
Normal control	100	30.0 \pm 0.0
Irradiation control ¹⁾	10	13.7 \pm 6.0
HemoHIM (p.o.) ²⁾ + irradiation ¹⁾	35	17.8 \pm 8.6
HemoHIM (i.p.) ³⁾ + irradiation ¹⁾	40*	19.4 \pm 9.5**

¹⁾Mice were whole-body irradiated with 8 Gy of γ -ray.

²⁾HemoHIM was given p.o. (1 mg/mL of drinking water) from 7 days before irradiation to the day of death or the end of the experiment.

³⁾HemoHIM was given i.p. (25 mg/kg B.W.) at 36 and 12 hr before irradiation and 30 min and 24 hr after irradiation.

* $p < 0.05$ as compared with irradiation control group (Chi-square test).

** $p < 0.05$ (Student's *t*-test) as compared with irradiation control group.

HemoHIM이 위장관 및 면역조혈계의 재생조직의 손상을 억제하고 그 회복을 촉진시킴으로써 나타난 결과로 사료된다.

요 약

본 연구팀에서는 방사선으로부터 위장관과 면역조혈계를 보호하기 위하여 당귀, 천궁, 백작약으로부터 새로운 생약복합물 HIM-I을 개발한 바 있다. 본 연구에서는 방사선 방호 뿐 아니라 다양한 생체질량의 예방에 있어 면역조혈기능이 중추적인 역할을 한다는 관점에서, HIM-I로부터 면역조혈기능을 더욱 증진시킨 생약복합조성물 HemoHIM을 제조하여 그 효능을 검증하였다. HIM-I를 에탄올 침지하여 에탄올 분획(HIM-I-E)과 조다당 분획(HIM-I-P)을 얻은 후, HIM-I에 조다당 분획을 첨가하여 HemoHIM을 제조하였다. 이렇게 얻은 HemoHIM, HIM-I 및 각 분획에 대하여 재생조직 및 면역계 방호와 회복촉진 효과를 비교 검증하였다. HemoHIM과 HIM-I는 시험관내에서 방사선에 의한 DNA 손상을 유의적으로 억제하고 수산화 라디칼을 소거하는 효과가 있음이 관찰되었으며, HemoHIM과 HIM-I는 거의 비슷한 활성을 나타내었다. 시험관내 면역세포 활성화와 골수세포 성장촉진 실험에서는 HemoHIM이 HIM-I에 비하여 높은 활성을 보였으며, 이는 HIM-I에 비해 높은 조다당 함량에 기인한 것으로 보인다. 감마선 조사 마우스를 이용한 생체 보호효과를 살펴본 결과, HemoHIM은 HIM-I와 비슷한 정도의 소장염 생존율 증가효과를 보였으나, 내재성 비장 조혈세포집락 형성시험에서는 HemoHIM은 HIM-I보다 높은 효과를 나타내었다. 또한 방사선조사 마우스에서 HemoHIM의 투여는 방사선 조사후 급격히 감소된 말초 혈액내 백혈구 및 림프구 수의 회복을 촉진시키고, 생존율을 증대시키는 효과가 관찰되었다. 이상의 결과들은 생약복합물 HIM-I에 조다당 분획을 첨가하여 개발한 새로운 생약복합조성물 HemoHIM이 방사선에 의해 유발된 위장관 및 면역계 조직의 손상을 감소시켜 생존을 증가시키는 효과가 있음을 제시하였다. 특히 HemoHIM은 HIM-I와 비교하여 재생조직의 산화적 손상억제 효과는 비슷하게 유지되면서도 면역조혈세포 방호 및 회복촉진 효과가 높은 것으로 관찰되어 방사선 방호제로서 뿐만 아니라 면역조혈기능 증진제로서 유용하게 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부의 원자력연구개발 중장기계획 사업(M2-0305-02-0002)과 실용화 사업(M2-0366-05-0000)의 지원을 받아 수행하였기에 감사드립니다.

문 헌

1. IAEA safety series No. 47. 1978. *Manual on Early Medical*

- Treatment of Possible Radiation Injury*. IAEA, Vienna. p 74.
2. NCP report No. 65 1980. *Management of Persons Accidentally Contaminated with Radionuclides*. p 77.
 3. Halliwell B, Gutteridge JM. 1999. *Free radicals in biology and medicine*. 3rd ed. Oxford University Press, New York. p 604-607.
 4. Hendry JH, Roberts SA, Potten CS. 1992. The clonogen content of murine intestinal crypts: dependence on radiation dose used in its determination. *Radiat Res* 132: 115-119.
 5. Schwartz GM, Neta R, Vigneulle RM, Patchen ML, MacVittie TJ. 1988. Recovery of hematopoietic colony-forming cells in irradiated mice pretreated with interleukin-1 (IL-1). *Exp Hematol* 16: 752-757.
 6. Travis EL, Fang MZ, Basic I. 1988. Protection of mouse bone marrow by WR-2721 after fractionated irradiation. *Intl J Rad Oncol Biol Phys* 15: 377-382.
 7. Milas L, Hunter N, Reid BO, Thames HD Jr. 1982. Protective effects of S-2-(3-aminopropylamino) ethylphosphorothioic acid against radiation damage of normal tissues and a fibrosarcoma in mice. *Cancer Res* 42: 1888-1987.
 8. Milas L, Murray D, Brock WA, Meyn RE. 1988. Radioprotectors in tumor radiotherapy: Factors and settings determining therapeutic ratio. *Pharmacol Ther* 39: 179-189.
 9. Neta R, Douches S, Oppenheim JJ. 1986. Interleukin 1 is a radioprotector. *J Immunol* 136: 2483-2485.
 10. Neta R. 1988. Role of cytokines in radioprotection. *Pharmacol Ther* 39: 261-266.
 11. MacVittie TJ, Monroy RL, Patchen ML, Souza LM. 1990. Therapeutic use of recombinant human G-CSF (rhG-CSF) in a canine model of sublethal and lethal whole body irradiation. *Int J Radiat Biol* 57: 723-736.
 12. Zieg XL, Li XA, Zhang BY. 1992. Immunological and hematopoietic effect of *Codonopsis pilosula* on cancer patients during radiotherapy. *Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih* 12: 607-608.
 13. Li NQ. 1992. Clinical and experimental study on shen-qi injection with chemotherapy in the treatment of malignant tumor of digestive tract. *Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih* 12: 588-592.
 14. Mei QB, Tao TY, Cui B. 1991. Advances in the pharmacological studies of radix *Angelica sinensis* (Oliv) Diels (Chinese Danggui). *Chin Med J Engl* 104: 776-781.
 15. Miyanomae T, Frindel E. 1988. Radioprotection of hemopoiesis conferred by *Acanthopanax senticosus* Harms (Shigoka) administered before or after irradiation. *Exp Hematol* 16: 801-806.
 16. Wang Y, Zhu B. 1996. The effect of angelica polysaccharide on proliferation and differentiation of hematopoietic progenitor cell. *Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih* 76: 363-366.
 17. Ohta S, Sakurai N, Sato Y, Inoue T, Shinoda M. 1990. Studies on chemical protectors against radiation: Radioprotective substances of *Cnidii rhizoma*. *Yakugaku Zasshi* 110: 746-754.
 18. Hsu HY, Lian SL, Lin CC. 1990. Radioprotective effect of *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex. Fr.) Karst after X-ray irradiation in mice. *Am J Chin Med* 18: 61-69.
 19. Quan HX, Li HS. 1994. Effects of Radix Astragali on hemopoiesis in irradiated mice. *Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih* 19: 741-743.
 20. Kim SH, Lee SE, Oh H, Kim SR, Yee ST, Yu YB, Byun MW, Jo SK. 2002. The radioprotective effects of Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang: A prescription of traditional Chinese medicine. *Am J Chin Med* 30: 127-137.

21. Jo SK, Yu YB, Oh H, Kim SR, Kim SH. 2000. The effects of Shi-Quan-Dai-Bu-Tang and its ingredients on the survival of jejunal crypt cells and hematopoietic cells in irradiated mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 93-98.
22. Kim SH, Lee SE, Oh H, Yang JA, Chung CY, Jang JS, Yu YB, Jo SK. 1999. The radioprotective effect of Kuei-Pi-Tang as a prescription of traditional Chinese medicine in mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 698-704.
23. Oh H, Park HR, Jeong IY, Kim SH, Jo SK. 2002. Protective effects of *Paeonia japonica* against radiation-induced damage. *J Korea Asso Radiat Prot* 27: 181-188.
24. Kim SH, An MR, Nah SY, Lee JH, Kim JH, Jo SK, Jang SJ, Shin DH. 2001. The effects of herbs on the radiation-induced apoptosis in intestinal crypt cells. *J Korea Asso Radiat Prot* 26: 27-33.
25. Kim SH, Oh H, Kim SR, Jo SK, Byun MW, Kim KS, Lee JH, Shin DH. 2001. The radioprotective effects of radices herbs. *Korea J Vet Res* 41: 105-111.
26. Lee SE, Oh H, Yang JA, Jo SK, Byun MW, Yee ST, Kim SH. 1999. Radioprotective effects of two traditional Chinese medicine prescriptions: Si-Wu-Tang and Si-Jun-Zi-Tang. *Am J Chin Med* 27: 387-396.
27. Kim SH, Oh H, Lee SE, Jo SK, Byun MW. 1998. Effect of Si-Wu-Tang and Si-Jun-Zi-Tang on the survival of jejunal crypt cells and hematopoietic cells in irradiated mice. *Korean J Food Sci Technol* 30: 888-894.
28. Park HR, Kim SH, Yee ST, Byun MW, Jo SK. 2005. The effects of a herb mixture (HIM-I) on the protection of the hematopoietic-immune system and self-renewal tissues against radiation damage. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 605-612.
29. Singh NP, Stephens RE, Schneider EL. 1995. Induction of DNA single-strand breaks in human lymphocytes by low doses of γ -ray. *Int J Radiat Biol* 66: 563-569.
30. Gutteridge JM. 1984. Reactivity of hydroxyl and hydroxyl-like radicals discriminated by release of thiobarbituric acid-reactive material from deoxy sugars, nucleosides and benzoate. *Biochem J* 15: 761-767.
31. Hartzman RJ, Bach ML, Bach FH. 1972. Precipitation of radioactivity labeled samples, a semi-automatic multiple-sample processor. *Cell Immunol* 4: 182-186
32. Withers HR, Elkind MM. 1970. Microcolony survival assay for cells of mouse intestinal mucosa exposed to radiation. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med* 17: 261-267.
33. Milas L, Hunter N, Ito H, Peters LJ. 1984. *In vivo* radioprotective activities of diethyldithiocarbamate (DDC). *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 10: 2335-2343.
34. Fedorocko P, Mackova NO. 2000. Radioprotection of hematopoietic stem cells by a single injection of bacterial lysate-IRS-19 administered to mice before or after irradiation. *Int J Immunopharmacol* 22: 989-999.
35. Zhang JS, Sigdestad CP, Gemmell MA, Grdina DJ. 1987. Modification of radiation response in mice by fractionated extracts of *Panax ginseng*. *Radiat Res* 112: 156-163.
36. Kim SH, Son CH, Nah SY, Jo SK, Jang JS, Shin DH. 2001. Modification of radiation response in mice by *Panax ginseng* and diethyldithiocarbamate. *In Vivo* 15: 407-411.
37. Ohta S, Sakurai N, Sato Y, Inoue T, Shinoda M. 1990. Studies on chemical protectors against radiation. XXX. Radioprotective substances of *Cnidii rhizoma*. *Yakugaku Zasshi* 110: 746-754.
38. Wang Y, Zhu B. 1996. The effect of angelica polysaccharide on proliferation and differentiation of hematopoietic progenitor cell. *Chung Hua I Hsueh Tsa Chih* 76: 363-366.
39. Hosokawa Y. 1996. Radioprotective effect of Chinese medicinal prescriptions in mice. *J Med Pharmacol Soc for Wakan-Yaku* 3: 164-169.
40. Hsu HY, Ho YH, Lin CC. 1996. Protection of mouse bone marrow by Si-Wu-Tang against whole body irradiation. *J Ethnopharmacol* 52: 113-117.
41. Hsu HY, Hau DM, Lin CC. 1993. Effect of kuei-pi-tang on cellular immuno-competence of gamma-irradiated mice. *Am J Chinese Med* 21: 151-158.
42. Han SB, Kim YH, Lee CW, Park SM, Lee HY, Ahn KS, Kim IH, Kim HM. 1998. Characteristic immunostimulation by angelan isolated from *Angelica gigas* Nakai. *Immunopharmacology* 40: 39-48.
43. Ohsugi M, Fan W, Hase K, Xiong Q, Tezuka Y, Komatsu K, Namba T, Saitoh T, Tazawa K, Kadota S. 1999. Active-oxygen scavenging activity of traditional nourishing-tonic herbal medicines and active constituents of *Rhodiola sacra*. *J Ethnopharmacol* 67: 111-119.
44. Tomoda M, Matsumoto K, Shimizu N, Gonda R, Ohara N, Hirabayashi K. 1994. An acidic polysaccharide with immunological activities from the root of *Paeonia lactiflora*. *Biol Pharm Bull* 17: 1161-1164.
45. Milas L, Hunter N, Ito H, Peters LJ. 1984. *In vivo* radioprotective activities of diethyldithiocarbamate (DDC). *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 10: 2335-2343.
46. Ijiri K, Potten CS. 1987. Further studies on the response of intestinal crypt cells of different hierarchical status to eighteen different cytotoxic agents. *Br J Cancer* 55: 113-123.
47. Orazi A, Du X, Yang Z, Kashai M, Williams DA. 1996. Interleukin-11 prevents apoptosis and accelerates recovery of small intestinal mucosa in mice treated with combined chemotherapy and radiation. *Lab Invest* 75: 33-42.
48. Talmadge JE, Tribble H, Pennington R, Bowersox O, Schneider MA, Castelli P, Black PL, Abe F. 1989. Protective, restorative, and therapeutic properties of recombinant colony-stimulating factors. *Blood* 73: 2093-2103.
49. Patchen ML, MacVittie TJ, Williams JL, Schwartz GN, Souza LM. 1991. Administration of interleukin-6 stimulates multilineage hematopoiesis and accelerates recovery from radiation-induced hematopoietic depression. *Blood* 77: 472-480.
50. Hall EJ. 1988. *Radiobiology for the radiologist*. 3rd ed. J.B. Lippincott company, Philadelphia. p 365-376.

(2005년 4월 11일 접수; 2005년 6월 23일 채택)