

曼陀羅花 및 曼陀羅子 水抽出物이 마우스의 免疫細胞機能에 미치는 影響

高雲彩* · 宋昊竣** · 辛民敎**

*東義大學校 · 韓醫科大學, **圓光大學校 韓醫科大學

Effects of *Daturae Flos* and *Daturae Semen* Extract on the Immunocyte Responses in Mice

Woon-Che Ko*, Ho-Joon Song**, Min-Kyo Shin**

*College of Oriental Medicine Dong-Eui University, Pusan 614-010 and

**College of Oriental Medicine Won-Kwang University, Iri 570-749, Korea

Abstract—This study was undertaken to test the effects of *Daturae Flos*(DF) and *Daturae Semen*(DS) on the cellular and humoral immune responses, and the functions of the cells involved in immunoinflammation. Both extracts decreased the activity of superoxide dismutase, and the decrease was greater in the mouse group which was treated with DS. Both extracts decreased the phagocytic activity as measured by assessing the number of the latex particle within the phagocyte after incubation of peritoneal macrophages with fluorochrome-labelled latex particle and decreased natural killer cell activity as measured by enumerating the viable YAC-1 cells after treatment of target cells with splenic natural killer cells. Both extracts also decreased the cell-mediated immunity *in vivo* as assessed by measuring the ear thickness after sensitization and challenge with dinitrofluorobenzene, however, had no effects on the humoral immune responses as measured by checking hemolysin and hemagglutinin titers after immunization with sheep red blood cells(SRBC). Extracts of Semen caused decrease in the number of rosette forming cells between the splenic cells and SRBC. The results of this study suggested that both *Daturae* extracts could depress the immunoinflammation by affecting the various cell types involved in inflammation.

Keywords—*Datura stramonium* L. · hyoscine · hyoscyamine · atropine · superoxide dismutase activity · phagocytic activity · NK cell activity · anti-SRBC antibody titers

曼陀羅花·子是 茄科 Solanaceae에 屬한 一年生草本인 毒말풀 *Datura stramonium* L. 및 同屬 近緣植物의 꽃과 씨앗이다.¹⁾ 近者에는 뿌리와 잎도 藥用하며, 이를 曼陀羅根, 曼陀羅藥이라 한다.¹³⁾

曼陀羅花와 子是 明代(1590) 李時珍의 《本草

綱目》에 “氣味는 辛溫有毒하여 諸風과 寒濕脚氣를 治療하는데에 煎湯하여 洗滌하고, 驚癇과 脫肛을 主治하며, 癲醉藥에 넣기도 한다.”고 한 것이 藥으로 使用한 記錄上的 嚆矢이다. 그 當時는 꽃과 씨앗만을 藥用하였으나 近代에 와서는 거의 全草를 藥用으로 하고, 效能과 主治症에 대

한 臨床研究가 더욱 進展되어 왔으니 曼陀羅花는 氣味가 辛溫有毒하여 定喘 祛風濕 癱瘓止痛하는 效能이 있으므로 哮喘·驚癇·風濕痺痛·脚氣·瘡瘍·疼痛 등을 治療하며³⁾, 曼陀羅子是 氣味가 辛苦溫有毒하여 平喘·祛風·止痛하는 效能이 있으므로 喘咳·驚癇·風寒濕痺·瀉痢·脫肛·跌打損傷을 治療한다.¹⁴⁾

또한 曼陀羅葉은 喘息·痺痛·脚氣·脫肛을 治療하는 以外에 疝痛·胃酸過多·肝臟痛·鼓脹 肺勞夜汗·月經痛을 治療하고¹³⁾, 曼陀羅根은 狂犬咬傷과 惡瘡을 治療하는¹³⁾ 等 應用範圍가 넓어졌다.

臨床에서 治療處方으로 應用하는 境遇는 흔하지 않으나, 民間藥으로 曼陀羅의 花·子·葉을 麻藥中毒患者의 禁斷症狀을 解消하는데 煎湯 服用하며 肋膜炎治療藥에 加味하기도 하고, 關節炎에 外用하는 等으로 口傳되고 있다.

構成 成分에 대하여 曼陀羅花에는 hyoscine (=scopolamine), hyoscyamine 等の alkaloid를 含有하고^{9,12)}, 種子속에는 이들 成分 以外에 atropine과 脂肪油를 含有한다고 研究報告된 바 있으며^{2,7)}, 이들 成分은 人體內에 作用하여 中樞神經은 興奮시키나 副交感神經은 遮斷하는 作用이 있다고 報告되었다.⁶⁾

曼陀羅의 꽃이나 씨앗이 모두 定喘의 效能이 있어, 咳嗽 喘息을 治療하는 바, 이 定喘效能이 過敏性 疾患의 免疫系 調節機能과는 어떠한 連關이 있나를 究明하기 위하여 本 實驗研究에 着手한 바 有意性 있는 結果를 얻었기에 이에 報告하는 바이다.

實驗材料 및 方法

實驗材料

材料—本 實驗에 使用한 洋金花 *Daturae Flos* (DF)와 曼陀羅子 *Daturae Semen*(DS)는 1989年 7~8월에 全北 裡里에서 栽培한 것을 採取하여 乾燥하고 細切한 다음 물로 抽出하여 使用하였다.

實驗動物—動物로는 體重 18~25 g의 BALB/C 생쥐를 雌雄 區別없이 使用하였으며 固型飼料과 물을 충분히 공급하면서 實驗室 環境에 2주일 동

안 적응시킨 다음 使用하였다.

實驗方法

檢液의 調製—DF 150 g과 DS 300 g을 各各 取하여 5,000 cc 삼각플라스크에 蒸溜水 3,000 cc를 加하여 4시간동안 加熱抽出한 것을 濾過布로 濾過하였으며, 濾液을 1,000 rpm에서 20分間 遠心 分離하여 얻은 上清液을 rotary evaporator로 減壓濃縮한 다음 40°에서 減壓乾燥시킨 후에 DF 19 g과 DS 36 g의 乾燥粉末을 얻었다. 檢液은 本 實驗에서 必要한 藥量에 따라 稀釋하여 使用하였다.

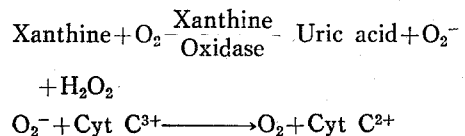
檢液의 投與—檢液을 마우스個體當 0.2 ml씩 매일 1회 DF와 DS는 각각 15 mg 및 30 mg을 14 일동안 經口投與하였고, 對照群은 同量의 0.85% saline을 같은 方法으로 投與하였다.

Superoxide dismutase(SOD)의 活性度

測定

粗酵素의 製造—14일동안 藥物이 投與된 BA-LB/C 생쥐의 腹腔을 切開한 後 肝組織을 摘出하였다. 分離된 肝組織은 glass homogenizer로 磨碎시키면서 磷酸緩衝液(pH 7.8) 1 ml을 첨가하였다. 이렇게 얻은 均等液을 얼음箱子에서 0~2° 狀態를 維持하면서 3분간 超音波 磨碎器 (labsonic 2,000 : B braun)로 處理한 후 4°에서 20,000 g로 30분간 遠心分離(Beckman, J₂~21M)하여 그 上澄液을 實驗에 使用하였다. 蛋白質定量은 Bradford²⁰⁾ 方法에 따라서 最終濃度가 100 µg/ml이 되게 準備하였다.

Xanthine과 xanthine oxidase의 反應에 의해 誘導된 superoxide의 測定—Xanthine과 xanthine oxidase의 反應에 의하여 生成되는 superoxide(O₂⁻)가 cytochrome C를 澤元시켜서 550 nm에서 吸光度의 變化를 測한다. 이와 같은 反應의 反應式은 다음과 같다.



Cytochrome C(800 µM)와 xanthine(800 µg/ml) 및 磷酸緩衝液(pH 7.8)에 xanthine oxidase (1×10⁻² µ/ml)을 添加하여 最終 부피가 1 ml가 되게 한 후 2~3초간 격렬하게 흔들여 주었다.

그 후 즉시 550 nm에서 spectrophotometer(Beckman, DU-7)로 吸光度의 變化를 1분간격으로 15분간 測定하여 standard로 하였다.¹⁸⁾

Superoxide dismutase의 分析—Cytochrome C(800 μ M)와 xanthine(800 μ g/ml) 및 磷酸緩衝液(pH 7.8)의 混合液에 各 實驗群과 對照群의 마우스로부터 얻은 肝組織의 粗酵素를 混合한 후 xanthine oxidase(1×10^{-2} μ /ml)를 添加하여 最終 부피가 1 ml가 되게 하여 2~3초간 격렬하게 흔들여 주었다. 그 후 즉시 550 nm에서 吸光度의 變化를 1분간격으로 15분간 測定하였다. 各條件에서 superoxide가 cytochrome C를 還元하는 程度는 消失速度常數(ΔE) $2.1 \times 10^4 M^{-1} cm^{-1}$ 을 適用하여 Beer法則에 準하여 還元된 cytochrome C의 n mol로서 表示하였다.²³⁾

大食細胞의 活性度 測定

大食細胞 誘導 및 分離—藥物 投與 11일 된 實驗群 생쥐의 腹腔皮下에 3 ml의 滅菌된 4.5% Brewer's modified thioglycolate broth를 注射하여 大食細胞의 增殖을 誘導하였다. 3일 후 實驗群 생쥐의 腹腔表皮를 切開한 후에 5 ml의 滅菌된 HBSS(Ca^{++} · Mg^{++} -free)를 腹腔에 注射하여 Pasteur pipette으로 腹腔內의 大食細胞를 얻었다. 이렇게 얻은 大食細胞는 HBSS로 3회 洗滌한 후 食菌作用 活性度 分析에 使用하였다.²⁹⁾

大食細胞의 食菌作用 分析—大食細胞의 食菌作用은 FITC로 라벨된 polystyrene latex particle (1.88 μ m, polyscionces, warrington)를 利用하였다. 10% fetal bovine serum이 첨가되어 있는 RPMI 1640 medium 1 ml에 1×10^6 개의 大食細胞를 5×10^7 개의 fluorescent latex particle 50 μ l를 첨가한 후 95% O_2 와 5% CO_2 및 濕氣가 充分한 incubator에 45분간 37°에서 培養시켰다. 培養후 2 ml의 cold HBSS를 첨가하여 400 g로 10분간 遠心分離하여 2회 反復 洗滌하였다. 綠色 螢光을 나타내는 大食細胞의 食菌作用活性度 測定은 流式細胞 分離 分析機(FCM)로 測定하였다.^{19,27)} Fluorescent latex particle은 488 세기로 發光된 argon-ion laser beam 20 mw 출력에서 分析하였다. 螢光物質의 형광신도는 綠色螢光이 530 nm의 band pass filter에서 選擇의므로 透過되어 各 感知되었다. 感知된 情報는 BDIS의

consort 30 program에 의하여 百分率로 計算되었다.

$$\% \text{ Phagocytic activity} = \frac{TE_0 - TE_{45}}{TE_0} \times 100$$

TE_0 =FITC로 라벨된 latex particle(5×10^7)과 大食細胞(1×10^6)를 混合하여 培養直前(0시간)의 latex particle의 數

TE_{45} =FITC로 라벨된 latex particle(5×10^7)과 大食細胞(1×10^6)를 混合하여 45분동안 培養後의 latex particle의 數

自然致死細胞(Natural killer cell: NK cell)의 活性度 測定

標的細胞(Target cell)—생쥐의 自然致死細胞에 感受性이 銳敏한 YAC-1 細胞를 NK cell 活性度 測定에 使用하였다. YAC-1 細胞는 連續 浮遊培養法으로 維持하였으며, 培養液은 10% fetal bovine serum과 penicillin(100 μ g/ml), streptomycin(100 μ g/ml), 및 gentamycin(100 μ g/ml)이 添加된 RPMI 1640을 使用하였다.

效果細胞(Effector cell)—藥物이 投與된 實驗群 생쥐로부터 腹部를 切開하여 spleen을 摘出した 다음 3 ml의 HBSS가 들어 있는 petridish로 옮긴 후 slide glass로 으개어서 細胞浮遊液을 만들었다. 細胞浮遊液을 mesh로 자른 다음 Ficoll-Paque를 使用하여 400 g로 遠心分離시켜서 單核細胞層을 얻었다. 單核細胞는 HBSS로 3회 洗滌하여 hemocytometer를 使用하여 4×10^6 개의 細胞로 決定한 후 自然致死細胞 活性度 測定에 使用하였다.

自然致死細胞 活性度 分析—C/FDA의 working solution(150 μ g/ml)은 C/FDA stock solution(20 mg/ml acetone) 7.5 μ l을 1 ml의 HBSS에 稀釋시켜서 15분 이내에 實驗에 使用하였다. 標的細胞의 라벨은 C/FDA working solution 1 ml에 2×10^5 개의 YAC-1 細胞를 浮遊시켜서 37°에서 30분간 培養시켰다. 培養後 2 ml의 HBSS로 3회 洗過한 후 自然致死細胞 活性度 測定에 使用하였다. C/FDA에 라벨된 YAC-1 細胞는 2×10^4 개로 滴定한 후 200 μ l의 RPMI 1640 medium이 들어 있는 5 mm round-bottomed polystyrene tube에 效果細胞와 함께 培養하였다. effector : target 細胞의 比率는 20 : 1의 比率로 培養하였으며, 融

습을 向上시키기 위하여 200 g로 약 30초간 遠心分離시켜 5% CO₂ incubator에 37°에서 培養하였다. 培養은 3시간동안 隨行하였으며, 流式細胞分離分析機(FCM)로 測定할 때까지 4°의 壓冷狀態에서 保管하였다. 또한, C/FDA에 라벨된 2×10⁴개의 YAC-1 細胞만 200 μl RPMI 1640 medium에서 實驗群과 同一한 시간으로 培養하였으며, 이것을 對照群으로 使用하였다. YAC-1 細胞의 生存率은 trypan blue(Floul Labs) exclusion 方法과 流式細胞分離分析機를 測定하였으며 90% 以上 이었다.

自然致死細胞에 의해 致死되는 標的細胞의 測定은 488세기로 發光된 argon-ion laser beam 20 mw 출력에서 分析되었으며, 綠色螢光物質(fluorescein isothiocyanate)은 530 nm의 band pass filter에서 選擇의으로 透過 感知되었다. 感知된 情報은 BDIS의 consort 30 program에 의하여 百分率로 計算되었다. 自然致死細胞의 活性度는 다음 公式에 의해 計算되었다.²⁴⁾

$$\% \text{ NK cell activity} = \frac{\text{TE}_0 - \text{TE}_3}{\text{TE}_0} \times 100$$

(Specific lysis)

TE₀=C/FDA로 라벨된 YAC-1 細胞와 效果細胞(1:20)를 混合한 후 培養直前(0시간)의 C/FDA로 라벨된 YAC-1의 數

TE₃=C/FDA로 라벨된 YAC-1 細胞와 效果細胞(1:20)를 混合한 후 培養 3시간후의 C/FDA로 라벨된 YAC-1의 數

接觸性 過敏反應의 測定

接觸性 過敏反應(contact hypersensitivity : CH)의 誘發을 위하여 DNFB(Sigma)를 抗原으로 使用하였다. acetone과 olive oil를 4:1의 比率(V/V)로 溶解한 후 0.5% DNFB 溶液 50 μl을 藥物 投與 8일된 實驗群 생쥐의 腹部皮膚에 感作하고 感作 후 4일에 0.2% DNFB 溶液 20 μl을 耳輪內面에 各各 塗抹하여 惹起 措置하였다. 腫瘍增加率은 Mitutoyo engineer's micrometer를 利用하여 惹起直前과 惹起後 24시간뒤에 各各 測定하여 10⁻⁴ inch로 나타냈으며, 抑制(depression)의 百分率는 다음 公式에 의하여 計算하였다.^{25,26)}

% Depression

$$= \frac{\text{Positive con.} - \text{Experiment}}{\text{Positive con.} - \text{Negative con.}} \times 100$$

綿羊赤血球에 대한 抗凝集素價 및 溶血素價 測定

抗原—胸腺 存在性 抗原으로 使用한 綿羊赤血球(sheep red blood cell: SRBC)는 全北大學校獸醫科大學에서 飼育하고 있는 綿羊의 頸靜脈으로부터 採血한 후 同量의 Alsever 試液(pH 6.1)을 加하여 4°에서 保管하면서 4주이내에 使用하였으며 保管中인 綿羊赤血球를 使用할 때는 使用直前に 滅菌한 PBS(phosphate buffered saline, pH 7.2)로 2~3回 洗滌하여 1×10⁸ cell의 濃度로 摘定한 후 使用하였다.

抗凝集素價 및 溶血素價 測定—藥物 投與 7일째 모든 實驗群의 생쥐에 1×10⁸ cells의 SRBC를 腹腔內로 注射하여 免疫하고, 免疫後 7일에 眼球後靜脈으로 부터 Pasteur pipette를 利用하여 採血한 다음 抗凝集素 및 溶血素價를 測定하였다.²⁷⁾

抗凝集素價의 測定은 實驗群으로부터 얻은 血清을 56°에서 30분동안 加熱하여 補體作用을 除去한 후에 microtitration trays(Lymbro Chemical Co.)에 滅菌한 PBS를 25 μl씩 連續 稀釋한 후 여기에 1×10⁸ cell의 SRBC를 50 μl씩 各各 分注시킨 후 37°에서 24시간 培養後 凝集이 發生한 最小 濃度の 값으로 決定하였다.

溶血素價의 測定은 實驗群의 血清을 56°에서 30분간 加熱하여 補體作用을 除去한 후에 microtitration tray에 5% rabbit complement(PBS 19:1 RC)를 25 μl씩 分注한 다음 여기에 1×10⁸ cell의 SRBC를 各各 分注하여 37°에서 1시간동안 培養한 후 溶血이 發生한 最小 濃度の 값으로 決定하였다.

Rosette 形成細胞의 測定—Rosette 形成細胞(Rosette forming cell: RFC)의 測定은 Bach等^{17,18)}의 方法에 따라서 測定하였다. 單核細胞浮遊液은 實驗群의 BALB/C 생쥐로부터 腹腔을 切開하여 脾臟(2個體混合)을 摘出した 후 Ficoll-Paque를 利用하여 400 g로 遠心시켜 얻었다. 이렇게 얻은 單核細胞浮遊液을 3×10⁷개의 細胞로 準備한 다음 附着細胞를 除去하기 위해서 滅菌된 注射器(2 ml)에 glass wool을 體積하여 2 ml의 細胞浮遊液을 添加한 후 37°에서 30분동안 培養하였다. 그 후 冷却된 15 ml의 HBSS를 계속

해서 注射器에 注入하여 통과시켰다. 이와 같이 準備된 淋巴球를 1×10^6 細胞로 摘定한 후에 1×10^7 개에 SRBC를 混合하여 37°에서 1시간동안 培養하였다.

Rosette 形成細胞의 測定은 上記와 같이 培養된 細胞 浮遊液을 4° 壓冷狀態에서 12시간이상 保管한 후에 400×顯微鏡視野에서 淋巴球 한개 當 3개이상의 SRBC가 附着된 것을 檢鏡하여 決定하였다.

統計處理—有意性 檢定은 Student's t-test에 依據했으며 P값이 0.05 이하를 有意性的 限界로 定하였다.

實驗 結果

DS 및 DF extracts 投與가 SOD의 活性度에 미치는 影響—DS 및 DF Ex.가 肝組織중의 SOD의 活性度에 미치는 影響을 알아보기 위하여 BALB/C 생쥐 1마리당 1ml씩을 各各 14일간 經口投與하였다.

藥物이 投與된 생쥐로부터 肝組織을 摘出하여 粗酵素(crude enzyme)를 얻어서 蛋白質 定量을 하여 最終 sample로 使用하였다.

藥物 投與에 따른 肝組織중의 SOD 活性度는

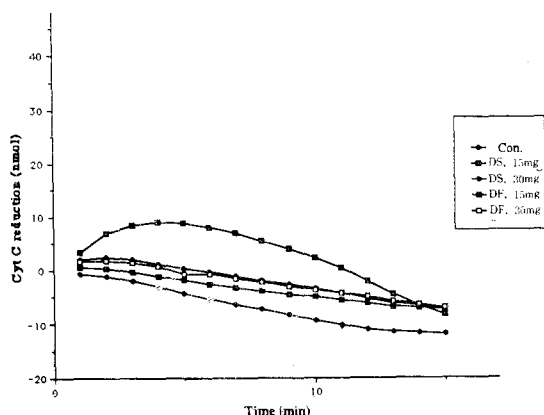


Fig. 1. The effects of DS and DF administration on superoxide dismutase(SOD) activity of the murine hepatocytes. Experimental groups of animals were given orally DS and DF (0.2 ml/mouse) for 14 days. The SOD activity was measured by its inhibitory capacity of cytochrome C reduction by the superoxide generated using xanthine oxidase ($1 \times 10^{-2} \mu\text{/ml}$) and xanthine(80 $\mu\text{g/ml}$).

spectrophotometer를 利用하여 間接的으로 測定하였다. 吸光度는 1분간격으로 15분간 測定하였으며, 이 값을 各 測定時間에 있어서 還元된 cytochrome C의 n mol로 計算하였던 바 Fig. 1과 같다.

Fig. 1.에 의하면 SOD의 活性度는 DS 15mg 投與에 의해 가장 많이 抑制되었으며, DS 30mg, DF 15mg 그리고 DF 30mg의 投與에 의해서도 抑制되는 傾向을 나타내었다.

DS 및 DF Ex.의 投與에 따른 大食細胞 活性度에 미치는 影響—DS 및 DF Ex.을 BALB/C 생쥐에 14일간 1ml씩 經口投與한 다음 이 藥物이 BALB/C 생쥐의 大食細胞 活性度에 미치는 影響을 알아보기 위하여 實驗群생쥐에 4.5% Brewer's modified thioglycolate broth를 腹腔皮下에 注射하여 大食細胞를 誘導한 후 3일째 大食細胞를 分離하였다. 그 후 FITC로 라벨된 polystyrene latex particle(1.88 μm)와 같이 培養하면서 FCM으로 그 活性度를 測定하였던 바 Fig. 2.와 같은 結果를 얻었다. DS 15mg 투여군은 33.3 ± 4.5 ($p < 0.05$), DF 30mg 투여군은 30.7 ± 4.6 ($p < 0.05$)으로 對照群(47.3 ± 5.4)에

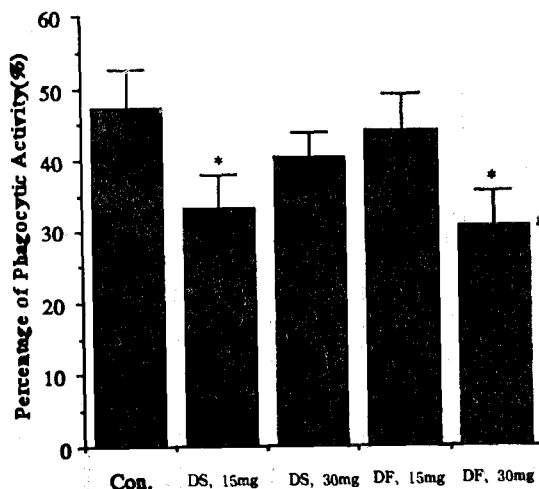


Fig. 2. The effect of DS and DF administration (0.2 ml/mouse) on the phagocytic activity (after 45 min incubation; Macrophage $1 \times 10^6 : 5 \times 10^7$ FITC latex particle) in mice. Animals were given orally DS and DF for 14 days. The components of administered drugs are the same as in Fig. 1. Data are shown as mean \pm S.E. * $p < 0.05$ compared with the control.

비하여 有意性있게 大食細胞 活性度에 있어서 減少하는 傾向을 보였으나 DS 30 mg 투여군은 40.1±3.5와 DF 15 mg 투여군은 43.8±5.3으로 거의 差異가 없었다.

自然致死細胞(NK cell)의 致死能力에 대한 影響—DS 및 DF Ex.으로 投與한 BALB/C 생쥐의 淋巴球 細胞중 自然致死細胞의 致死能을 알아보기 위해서 YAC-1細胞를 標的細胞로 使用하였다. Mc Ginnes 等⁷⁶⁾ (1986)의 方法에 따라서 YAC-1標的細胞를 C/FDA로 標的시킨 후 效果細胞와 標的細胞의 比를 20:1로 3시간동안 培養시킨 후 FCM으로 分析했던 바 Fig. 3과 같은 結果를 얻었다. 自然致死細胞의 致死能은 對照群이 30.5±4.5, DS 30 mg 투여군 20.7±4.3(p<0.05), DF 30 mg 투여군은 22.4±5.4(p<0.05), DS 15 mg 투여군은 23.8±5.1(p<0.05), DF 15 mg 투여군은 27.1±3.5 등으로 나타났다. 이들 實驗群중 DF 15 mg 투여군은 對照群과 거의 差異가 없었으나, DS 15 mg 투여군과 DS 30 mg 투여군 및 DF 30 mg 투여군은 對照群에 비해 有意性 있는 減少를 보였다.

DS 및 DF Ex.의 投與에 다른 接觸性 過敏反應에 미치는 影響—BALB/C 생쥐에 있어서 DS

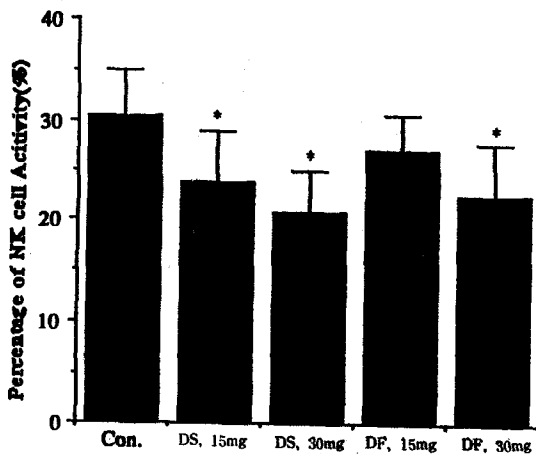


Fig. 3. The effects of DS and DF administration on the NK-cell activity in mice. Animals were given orally DS and DF for 14 days. The components of administered drugs are the same as in Fig. 1. Data are shown as mean±S.E. *p<0.05 compared with control.

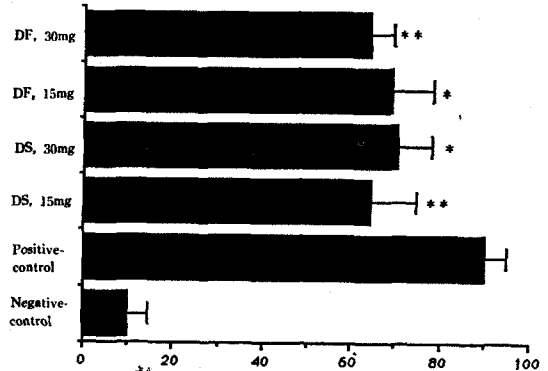


Fig. 4. The effects of DS and DF administration on contact hypersensitivity(CH) response in mouse. Animals were given orally DS and DF from 7 days before sensitization and maintained for 7 days after sensitization. The components of administered drugs are the same as in Fig. 1.

Data represent the mean ear swelling±S.E. *p<0.05, **<0.005 compared with control.

및 DF Ex.의 投與가 DNFB 感作에 의한 接觸性 過敏反應에 미치는 影響을 알아보기 위하여 생쥐 한마리당 1ml씩 各各 14일간 經口投與한 結果 다음과 같다(Fig. 4).

藥物 投與에 다른 DNFB 感作에 의한 接觸性 過敏反應에 대한 抑制는 DS 15 mg 투여군이 26.5±11.3%, DS 30 mg 투여군이 20.0±7.5%, DF 15 mg 투여군이 21.7±9.3%, DF 30 mg 투여군이 26.7±5.4% 등으로 對照群에 비해 抑制하는 傾向을 나타내었다.

DS 및 DF Ex.의 投與에 따른 赤血球凝集素價 및 溶血素價에 미치는 影響—BALB/C 생쥐에 있어서 DS 및 DF Ex.의 投與에 따른 綿羊赤血球에 대한 抗體生産能을 比較하기 위하여 綿羊赤血球에 대한 凝集素價 및 溶血素價를 測定하여 log 2값으로 計算하였던 바 Fig. 5와 Fig. 6과 같았다.

凝集素價는 對照群이 9.1±0.7인데 반하여 DS 15 mg 투여시는 8.15±0.63, DS 30 mg 투여시는 8.3±0.3, DF 15 mg 투여군은 8.35±0.5 및 DF 30 mg 투여군은 8.15±0.75 등으로 거의 差異가 없었다. 또한 溶血素價는 對照群이 9.2±0.5, DS 15 mg 투여로 8.25±0.7, DS 30 mg 투여로 8.1±0.8, DF 15 mg 투여로 8.4±0.7,

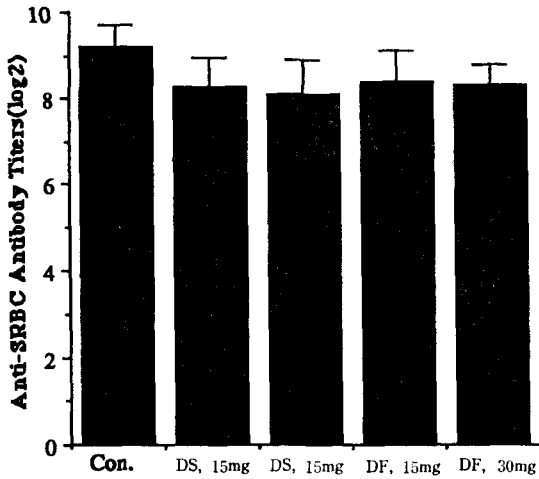


Fig. 5. The effects of DS and DF administration on the hemagglutinin titers(HA). The components of administered drugs are the same as in Fig. 1. Data represent the mean of antibody titers±S.E.

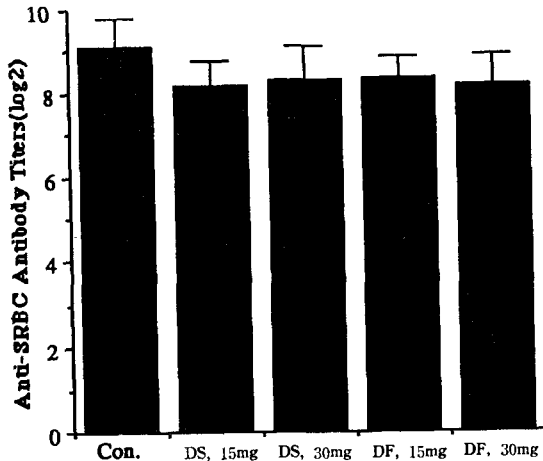


Fig. 6. The effects of DS and DF administration on the antibody formation against SRBC. The components of administered drugs are as in Fig. 1. Data represent the mean of antibody titers±S.E.

DF 30 mg 투여로 8.3±0.45 등으로 對照群에 비해 거의 差異가 없었다.

DS 및 DF Ex.의 投與가 脾臟細胞의 Rosette 形成細胞數에 미치는 影響—BALB/C 생쥐에 있어서 DS 및 DF Ex.의 投與가 抗原인 綿羊赤血球에 대한 實驗群과 對照群간의 免疫反應細胞數를 比較하기 위해 생쥐로부터 脾臟을 摘出하여 脾臟細胞의 RFC를 測定하였던 바 Fig. 7. 과 같다.

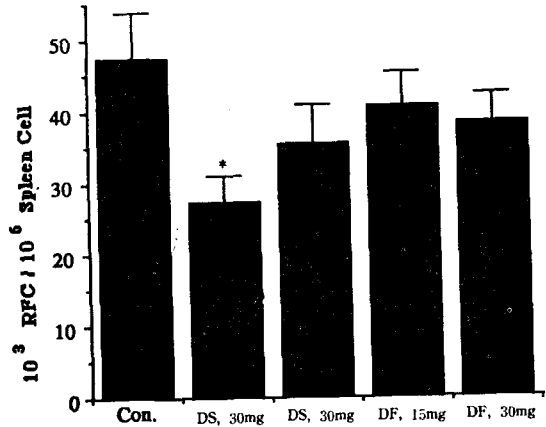


Fig. 7. The effects of DS and DF administration on appearance of rosette forming cells(RFC) in mice. The components of administered drugs are the same as in Fig. 1. Data represent the mean RFC±S.E. obtained from a pool of two spleens. *p<0.005 compared with control.

Fig. 7에 의하면 對照群의 10⁶ 脾臟細胞當 10³ RFC의 數는 47.35±6.5였으며, DS 15 mg 投與群에서는 27.41±3.8로서 有意性있게 減少하였다. (p<0.05) 또한, DS 30 mg 投與群에서는 35.51±5.4였고, DF 15 mg 投與群에서는 40.50±4.7이였으며, DF 30 mg 投與群에서는 38.35±4.0으로서 RFC가 對照群에 비해서 減少하였으나 有意性은 認定되지 않았다.

考 察

曼陀羅花는 가지科 Solonaceae에 屬한 1年生 草本인 毒말풀 *Datura stramonium* L. 曼陀羅 및 近緣植物인 털독말풀 *Datura innoxia* MILL. 毛 曼陀羅· 흰독말풀 *Datura metal* L. 白花曼陀羅· 민독말풀 *Datura inermis* JACG. 無刺曼陀羅· 메독말풀 *Datura fastuosa* L. 重瓣曼陀羅· 가지 毒말풀· 흰독말풀 *Datura alba* Nees. 白曼陀羅· 毒말풀 *Datura tatula* L. 紫花曼陀羅 등의 꽃인 데⁵⁾ 部位에 따라 잎·뿌리·씨앗 등도 藥用한다.

이 藥物은 열대 아프리카·아메리카·아시아가 原産이나 흰독말풀 *D. metal* L.은 南洋金花로 中國의 江蘇·福建·廣東에 주로 分布되어 있고^{4,10)} 털독말풀 *D. innoxia* MILL.은 北洋金花로 中國

의 河北·山東·河南 等地가 主產地이며¹⁵⁾ 또한 우리나라에도 歸化된 植物로서 全國에 野生 및 栽培되고 있다.

〈本草綱目〉에 「法華經言佛說法時，天雨曼陀羅花。又道家北斗有陀羅星使者，手執此花。故後人因以名花。曼陀羅，梵言雜色也。茄乃因葉形爾，姚伯聲花品呼爲惡客。」으로 收錄되어 洋金花의 名稱은 曼陀羅花로서 佛教에서 由來되었으며，異名으로는 山茄花·胡茄花·風茄花·虎茄花·惡客·佛花·雜花·癩花·耆婆草·醉仙桃·天茄彌陀花 등이 諸文獻¹¹⁾에 나타나 있어 대부분이 藥物의 效能이나 形態學의 特徵과 佛教와 聯關되어 命名된 것이다.

本 藥物의 種子에는 여러 種類의 alkaloid를 含有하고 있는데 그 主成分으로는 scopolamine 0.24%, hyoscyamine 0.02%, atropine 0.0025% 와 기타 脂肪油(palmitin, stearin) 20~30%을 含有한다고 報告하였다^{7,9)}. 主成分中 atropine (d-l-hyoscyamine)은 中樞神經을 興奮시킨 뒤 痲痺시키며, 또한 副交感神經의 末梢를 痲痺시키기 때문에 瞳孔을 散大시키며, 眼壓을 亢進시키고, 氣管支를 弛緩하고, 汗液·唾液·消化液 등의 分泌를 抑制하고 腸運動을 促進하며, 平滑筋의 痙攣을 緩和하는 作用이 있다고 報告하였다.²⁾

그러나 痲醉止痛·定喘止痙의 效能을 가지고 있는 本 藥物을 免疫學의 側面에서 研究報告된 바 없어 著者는 曼陀羅花 및 曼陀羅子의 免疫效果를 밝히고자 實驗을 實施하였다.

個體가 自我에 대한 免疫學의 反應을 喪失하면 自我를 이루는 모든 成分에 대하여 免疫反應이 招來될 可能性이 있으며, 이러한 疾患을 總體的으로 自家免疫性疾患이라고 부른다²⁰⁾. 이와는 약간 다르지만 外部的인 刺戟에 대하여 너무 심히 反應하여 招來되는 自我의 免疫學的 組織損傷에 의한 疾患을 모두 過敏性 疾患이라고 알려졌다²⁵⁾.

上記한 두 類型의 疾患은 비록 免疫反應에 의한 自己 組織의 損傷이라는 點에서는 同一한 病態生理를 보이지만 發病機轉은 서로 다른 原因에 의하여 일어난다고 볼 수 있다. 즉 免疫系는 強力한 組織 破壞力이 주어졌으므로 어떠한 原因에 의해서 든지 標的이 定해지면 그 標的을

除去하여 個體內部的 恒常性을 維持시키는 役割을 擔當하는데 自家免疫性疾患의 경우는 自己 內部的 原因에 의하여, 過敏性疾患의 경우는 生命력이 없는 사소한 外部的 因子에 의하여, 免疫系가 刺戟되어 自己 組織에 損傷을 招來하는 것이다²⁵⁾. 身體의 어느 곳을 통해서든간에 異物質이 들어오면 身體는 그 異物質이 身體의 다른 곳으로 波及되는 것을 막으려는 努力으로 炎症反應을 일으킨다. 이 炎症反應은 異物質이 들어온 場所에 그 異物質을 局限시키는 役割을 하여 그 局限된 곳에서 身體의 貪食細胞가 異物質을 貪食하여 死滅시켜 버리면 身體는 더 이상의 被害없이 평온을 되찾을 것이다. 그러나, 炎症反應을 誘發하지 아니하여도 될 경우에, 혹은 적은 炎症으로도 充分한 경우에 큰 炎症反應이 誘導된다면 正常組織이 破壞되므로써 身體에 해롭다. 過敏性 反應의 경우 結局은 炎症反應을 통하여 組織에 損傷을 招來하게 된다. 이러한 炎症反應의 殺菌能力 혹은 組織損傷은 炎症細胞에서 發生하는 反應酸素中間物質(reactive oxygen intermediate: ROI)에 의하여 存在된다고 알려졌다^{16,22)}. 過敏性 反應에 의한 炎症反應이 組織을 損傷시킬 때 ROI의 生産을 抑制하거나 이미 만들어진 ROI를 peroxidase 등이 迅速히 處理하면 組織損傷이 減少할 것이다.²³⁾

本 實驗에서 DF 및 DS는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 SOD作用에 의하여 組織損傷을 심하게 시킬 수 있는 ROI로 바꾸어 주는 作用을 抑制시켰다. 이는 DF 및 DS가 過敏反應의 마지막 段階인 炎症反應에도 作用하여 組織損傷의 程度를 減少시키는 것으로 그 作用機轉이 特異하였다.

또한 炎症反應의 分子的인 作用機轉은 炎症細胞의 顆粒含有物 혹은 ROI에 의하여 侵入한 微生物을 死滅시키는 것이지만 그렇게 되려면 外部因子가 들어온 部位에 好中球나 大食細胞와 같은 貪食能이 附與된 貪食細胞가 炎症外部로 浸潤이 일어나야 可能하며 炎症部位에 浸潤된 貪食細胞는 異物質을 活潑히 貪食하여야 한다. 물론 過敏反應의 경우에는 이러한 貪食細胞의 浸潤이나 浸潤된 貪食細胞의 貪食能이 오히려 해롭다²¹⁾. 貪食細胞를 微生物의 크기만한 螢光物質이

附着된 유리구슬과 함께 一定時間 作用시킨 후 貪食되지 아니한 구슬을 除去한 다음 流式細胞分離 分析機(FCM)를 利用하여 貪食細胞의 貪食能을 評價한 結果 DF 및 DS는 貪食細胞의 貪食能을 低下시켰다(Fig. 2). 이러한 DF 및 DS의 作用은 ROI를 減少시키는 作用과 함께 炎症反應을 여러 作用機轉으로 減少시킨다고 思料된다.

身體內部에서 빨리 커가는 細胞의 어떤 成分에 대하여 NK細胞는 그 性狀이 아직 밝혀지지 아니한 受容體를 가지고 있어 그러한 細胞를 認識하여 除去하는 能力이 있다²⁸⁾.

그러므로, 이러한 細胞의 活性은 抗癌能力과 關係가 있으며 腫瘍免疫學에서 重要시 한다. 白血病을 앓고 있는 人에서 分離한 K₅₆₂ 細胞球는 NK 細胞의 活性度를 測定함에 있어서 널리 쓰이고 있다.²⁴⁾

本 實驗에서 K₅₆₂ 細胞에 FDA로 染色하여 산 細胞의 細胞內 esterase에 의하여 螢光을 發하게 되면 산 細胞와 죽은 細胞를 區別할 수 있다. DF 및 DS는 NK 細胞의 活性度까지 減少시켰는데(Fig. 3) 그 作用機轉은 더 追究해 보아야 할 것으로 思料된다.

이상과 같이 DF 및 DS는 貪食細胞의 細胞內 殺菌과 組織損傷에 主役割을 擔當하는 ROI의 酵素에 의한 除去를 向上시켰으며, 또한 貪食細胞의 貪食能을 減少시켰을 뿐만 아니라 NK 細胞의 致死作用도 低下시켰다. 이러한 免疫細胞에 대한 抑制作用은 DF와 DS가 過敏性 反應에 效果가 있다는 事實과 相應하는 結果였다(Fig. 2, 3.).

가장 強力한 接觸性 過敏反應의 誘導物質중의 하나인 dinitro fluoro benzene(DNFB)을 생쥐의 腹部皮膚에 塗布하여 感作시키고 그 4일후에 귀바퀴에 腫瘍을 惹起시킨후 測定한 接觸性 過敏反應이 藥物投與에 의하여 抑制된 本 實驗 結果 Fig. 4는 DF와 DS가 免疫反應에 의하여 招來되는 炎症反應을 抑制시킬 수 있음을 示唆하였다. 그러나 DS와 DF의 投與가 綿羊赤血球(SRBC)에 대한 抗體形成能에는 影響을 미치지 아니하였다(Fig. 5, 6).

이러한 結果는 DS와 DF의 投與가 細胞性 免疫反應에는 抑制作用을 나타냈지만 體液性 免疫

反應에는 抑制作用이 없음을 알 수 있는데 이는 DS와 DF가 免疫反應을 過度하게 抑制하여 感染에 쉽게 罹患시키지 않게 하는 藥材임을 나타내었다.

DS와 DF가 생쥐의 脾臟에 存在하는 Rosette 形成細胞의 變化를 觀察한 바 數的減少를 招來하였는데(Fig. 7) 이는 刺戟하는 抗原에 대한 感受性 細胞의 增殖을 抑制하여 細胞性 免疫反應의 減少를 招來한 것과 相應한 것으로 DS와 DF의 作用機轉을 나타내는 結果라고 본다.

以上の 實驗結果를 綜合하여 보면 生體內 免疫反應으로서 DNFB에 의한 接觸性過敏反應은 減少한 반면에 SRBC로 誘導된 抗體形成能에는 影響을 미치지 못하였으며 또한 試驗管内 免疫細胞의 活性度에 있어서 大食細胞 貪食能, 自然致死細胞能, Rosette 形成能, 過酸化變位補酵素 活性度 등은 抑制된 것으로 보아 曼陀羅花·曼陀羅子는 過敏反應에 의한 免疫抑制劑로 應用될 수 있다고 본다.

結 論

曼陀羅花 및 曼陀羅子 水抽出物을 마우스에 經口投與하여 免疫細胞機能에 미치는 影響을 觀察한 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

曼陀羅花 水抽出物 投與時 모든 實驗群에서 superoxide dismutase의 活性度가 抑制되었으나 특히 曼陀羅子 投與群에서 가장 抑制되었다. 曼陀羅花 및 曼陀羅子 抽出物의 投與로 腹腔內 大食細胞의 貪食能을 全般的으로 抑制시켰으며 마우스의 自然致死細胞가 標的細胞인 YAC-1 細胞를 殺害시키는 能力을 減少시켰고 DNFB로 感作시킨 4일후에 DNFB로 惹起시킨 接觸性 皮膚反應에 抑制效果가 있었다. 또 綿羊赤血球로 免疫시킨 7일후에 動物의 血清을 取하여 測定한 抗凝集素價 및 抗溶血素價의 力價에는 影響을 미치지 않았으며 脾臟에 存在하는 抗原結合細胞와 SRBC가 이루는 Rosette 形成이 抑制되었으며 특히 曼陀羅子 抽出物의 投與群에서 더욱 抑制되었다. 以上과 같은 結果로 보아 曼陀羅花와 曼陀羅子 모두 臨床의 알레르기性 喘息 및 炎症性 疾患에 대한 免疫抑制 效果를 認定할 수 있었으

며 특히 曼陀羅花 보다 曼陀羅子가 더욱 강한 효과가 있다고 思料된다.

〈1990년 10월 20일 접수 : 11월 15일 수리〉

文 獻

1. 江蘇新醫學院編：中藥大辭典(下卷)，上海，上海科學技術出版社，p.1719, (1977).
2. 金一赫：藥品植物學各論，서울，學窓社，p.360, (1982).
3. 凌一揆：中藥學，上海，上海科學技術出版社，p.188, (1984).
4. 馬興民：新編中藥炮制法，北京，陝西科學技術出版社，p.601, (1980).
5. 辛民教：原色臨床本草學，서울，南山堂，p.652, 1986.
6. 顏焜熒：原色生藥學，臺北，南天書局有限公司，p.95, (1986).
7. 刈米達夫·木村雄四郎：和漢藥用植物，東京，廣川書店，p.64, 1939.
8. 王浴生主編：中藥藥理與應用，北京，人民衛生出版社，p.801, (1983).
9. 劉壽山：中藥研究文獻摘要(1820~1961)，北京，科學出版社，p.675, 1975.
10. 劉接寶：中藥材形態鑑別，臺北，立得出版社，p.216, (1987).
11. 李泰浩：鮮漢藥物學，서울，杏林書院，p.237, 1931.
12. 赤松金芳：和漢藥，醫齒藥出版，式會社，p.123, (1970).
13. 鄭普燮·辛民教：圖解鄉藥(生藥)大事典，서울，永林社，p.823, (1990).
14. 中國生草藥研究發展中心編：現代本草中國藥材學，臺北，啓業書局，p.790, (1975).
15. 青海省生物研究所編：青藏高原藥物圖鑑，青海省，青海人民出版社，p.338, (1972).
16. Arthur, M.J.P., Kowalski-Saunders, P., Gurney, S., Tolcher, R., Bull, F.G. and Wright, R.: *J. Immuno. Meth.* 98, 63, (1987).
17. Avrames, S., Bach, J.F and Preud'homme, J.L.: Antibody formation at the cell level in immunology, John Wiley & Sons In C., New York, p.508, (1982).
18. Bach, J.F., Dardenne M.: *Cellular Immunology.* 3, 1, (1972).
19. Biozzi, G., Stiffel, C., Mounton, D., Bouthiller, Y. and Decrusefound, C.: *Immunology* 14, 7, 1968.
20. Bradford, M.M.: *Anal. Bio Chem.* 72, 248, 1976.
21. Buschmann, H. and Wintor, M.: *J. Immunolo Meth.* 124, 231, (1989).
22. Kitagawa, S., Takaku, F., and Sakamoto, S.: *J. Clin Invest.* 65, 74, (1980).
23. Mccord, J.M., Crapo, J.D. and Fridovich, I.: Superoxide dismutase assays: a review of methodology. In superoxide and superoxide dismutase, 1st edn. (eds. Michelson. A.M. Mccord, J.M. and Fridovich I.). p.1.
24. McGinnes, K., Chopman, G., Marks, R. and Penny, R.: *J. Immunol. Meth.* 86, 7, (1986).
25. Mitsuoka, A. et al.: *Immunology*, 34, 363 1978.
26. Noonan, F.D., Defabo, E.C. and Kripke, M.L.: *Photobiol.* 34, 683, (1981).
27. Nowotny, A.: Antigen-Antibody interactions in basic exercises in immunochemistry, Springer, Verlag Bertin Heidelberg, N.Y., p.217, 285 1979.
28. Roitt, I.M.: *Essential Immunology*, Blackwell Sci., London, p.254, (1988).
29. Stewart, C.C. and Lin, H.: *J. Reticuloendothel. Soc.* 23, 266 (1978).