

錢氏白朮散이 생쥐의 體液性 免疫反應과 細胞性 免疫反應에 미치는 效果

沈文敬* · 朴恩貞**

ABSTRACT

Effect of Junsibaekchulsan on the humoral
and cell-mediated immune responses in mouse

Mun Kyeoung Sim
Dept. of Oriental Medicine
Graduate School
Won kwang University
Directed by Prof.
Eun Jeang Park, O.M.D, ph.D

Even though appropriate immune response is necessary for the survival of the individual, excessive or insufficient immune response might cause autoimmune or allergic disease respectively. So the immune response must be controlled to the degree that is beneficial for the well being of the individual. This study was undertaken to know the effects of Junsibaekchulsan(JB) on the immune system of the mouse. For the evaluation of the cell-mediated immunity (CMI), delayed-type hypersensitivity against dinitrofluorobenzene(DNFB) were measured, and humoral immunity, hemagglutinin and hemolysin titers against SRBCs(sheep red blood cells) were measured, and rosette formation of spleen cells with SRBCs were measured. For the evaluation of innate immunity, phagocytic activity of macrophages, natural killer cell activity, and reactive nitrogen and oxygen intermediates were measured.

The results are as follows:

1. The administration of JB depressed the antibody formation (hemagglutinin and hemolysin) against SRBCs.
2. The administration of JB did not affect the delayed-type hypersensitivity against DNFB.
3. The administration of JB did not affect the cytotoxic activity of natural killer cells.
4. The administration of JB increased the phagocytic activity of macrophages.
5. The administration of JB increased the rosette forming cells of the spleen cells.
6. The exposure of JB induced the secretion of reactive nitrogen intermediates but administration of JB depressed the production of reactive oxygen intermediates.

Administration of JB selectively depressed the humoral immune response without affecting CMI and innate immunity. These results of JB on the immune system might be useful for the treatment of such

* 圓光大學校 附屬韓方病院

** 圓光大學校 韓醫科大學

I. 緒 論

錢氏白朮散¹⁻⁴⁾은宋代錢乙¹⁾의小兒藥證直訣에 처음 기록된 處方으로, 主治症은脾胃久虛嘔吐泄瀉頻作不止精液枯渴煩渴躁但欲飲水乳食不進羸瘦因劣因而失治變成驚癇不論陰陽虛實이라 하였다. 그以來脾胃久虛로 인한吐瀉^{1,2,4,8,17)}, 吐瀉가 오래되어律枯하여欲成慢驚^{10,11,13,16,19,20)}, 弄舌·舒舌³⁾, 傷寒餘熱未淨而泄瀉^{10,16)}, 虛熱而渴泄瀉^{14,18,20,24)} 등을治療하는데應用되어 왔다.

小兒는臟腑가嬌嫩하고脾常不足하며, 疾病에 대한抵抗力이弱하고飲食節制를 잘못하므로, 外感六淫이나內傷乳食으로 인해脾胃의機能이 쉽게失調되어泄瀉가發生한다^{7,22)}. 특히泄瀉가 오랫동안持續되면脾胃가虛弱하게 되어六淫이나傷食等の原來病因이除去된 후에도脾虛로 인한慢性泄瀉로進行되며, 이로 인해營養障礙와吸收障礙가 심해지면免疫機能에異常을 가져온다²³⁾. 이는脾胃의機能과免疫系가 상당한關聯이 있음을示唆하는 바로李¹⁴⁾의脾胃之氣既傷而元氣亦不能充而諸病之所由生也, 張²⁵⁾의四季脾旺不受邪에서理論的根據를 삼을 수 있다.

脊椎動物의免疫系는細胞性免疫反應과體液性免疫反應으로大別되는데, 細胞性免疫反應은細胞內寄生物이나腫瘍細胞에 대한防禦機能을擔當하는反面, 體液性免疫反應은細胞外寄生物에 대한防禦機能을擔當한다. 그러나 이러한 이로은免疫反應일지라도治療目的으로移植한組織이나器官에 대하여移植拒否反應을招來할 수 있으며, 飲食物 속의成分이나空氣중의꽃가루 등에 대한抗體形成은알레르기성疾患 등을招來할 수 있다. 그러므로免疫反應은個體에 이롭게作用할 수도 있고 해롭게作用할 수도 있으므로免疫反應이亢進된疾病은抑制를, 低下된疾病은亢進을시켜야 한다.

錢氏白朮散에對한實驗的研究로金²⁶⁾은十二指腸

杯狀細胞에 미치는影響을, 尹²⁷⁾은胃腸管에서의胃液分泌, 胃液酸度, 腸管輸送能, 止瀉 및鎮痛作用을觀察하였으며, 錢氏白朮散을構成하고 있는四君子湯의免疫에關한實驗研究로, 金²⁸⁾은細胞性 및體液性免疫反應低下를回復시킴을, 林²⁹⁾은ATP와ATPase의活性度を促進시켜家兔의生活免疫力를增加시킴을, 李³⁰⁾는생쥐의免疫反應 및NK細胞를活性化시킴을보고하였다. 그러나, 四君子湯에木香 藿香 葛根을加味한處方인錢氏白朮散이免疫系에 미치는影響을觀察한實驗結果는아직접하지 못한바, 著者는急性腸炎 후續發하는慢性泄瀉, 過敏性腸症候群과같은慢性非特異性泄瀉 및알레르기성泄瀉 등의脾虛泄瀉에活用되고 있는錢氏白朮散의投與가個體의免疫系에 미치는影響을觀察할目的으로錢氏白朮散을投與한생쥐의細胞性 및體液性免疫反應을測定하여有意한結果를얻었기에報告하는바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 材 料

1) 동물

8~10週 사이의BALB/C생쥐(圓光大學校韓醫科大學實驗動物飼育室)로cage(18×20cm)당6個體의密度를維持하였으며, 2週日間室溫에서물과飼料(제일사료)를充分히供給하고, 낮과밤의週期를12시간씩調節하면서 가능한한스트레스를받지않도록飼育한다. 다음本實驗에使用하였다.

2) 藥材

錢氏白朮散은東醫寶鑑¹³⁾에準하였으며, 實驗에서使用한藥材는圓光大學校韓醫科大學全州附屬漢方病院의精選된藥材를使用하였고그內容과한집分量은scheme 1과같다.

Scheme 1. Prescription of Junsibaekchulsan

藥物名	生藥名	重量(g)
乾葛	RADIX PUERARIAE	7.50
人蔘	RADIX GINSENG	3.75
白朮	RHIZOMA ATRACTYLODIS MACROCERHALAE	3.75
白茯苓	PORIA	3.75
木香(唐)	RADIX SAUSSUREA	3.75
藿香	HERBA AGASTACHIS	3.75
甘草	RADIX GLYCYRRHIZAE	3.75
TOTAL AMOUNT		3.00

3) 抗原78-79)

胸腺存在性 抗原으로 사용한 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으로 부터 採血한 後 同量의 Alsever 氏液(pH6.1)을 加하여 4℃에서 保管하면서 4주 以內에 使用하였으며 保管중인 綿羊赤血球를 使用할때는 使用直前에 滅菌한 Phosphate Buffered Saline(PBS, pH7.2)로 2~3回 洗滌하여 1×10^8 cell의 濃度로 適定한 後 使用하였다.

2. 方 法

1) 檢液의 調製

上記 處方 1貼 分量(30.000g)을 2000ml round fiask에 넣고 蒸溜水 620ml를 加하여 100℃로 4時間 동안 重湯하여 濾過布로 濾過하였으며, 濾過液을 100 rpm에서 20分間 遠心分離하여 얻은 上清液을 다시 重湯하여 100ml씩하여 濃縮하여 檢液으로 使用하였다.

2) 檢液의 投與

各各의 檢液投與群에서는 檢液을 생쥐 1마리당 Junsibaekchulsan (JB)1群은 檢液 錢氏白朮散 (JB) : 증류수(DW) = 1 : 10을, JB2群은 檢液(JB : DW = 1 : 5)을, JB3群은 檢液(JB×1)을, JB4群은

檢液(JB×10)을 0.1ml씩 1日 1回씩 14일 동안 經口 投與 하였으며, 對照群은 同量의 生理食鹽水(0.85% NaCl)를 同一方法으로 投與하였다.

3) 凝集素價 및 溶血素價 測定⁸¹⁾

藥物 投與 14日째 모든 實驗群의 생쥐에 1×10^8 cell의 SRBC를 腹腔內로 注入하여 免疫하고, 免疫後 8日에 眼球後靜脈으로 부터 Pasteur pipette을 이용하여 採血한 다음 凝集素價 및 溶血素價를 測定하였다.

凝集素價의 測定은 實驗群으로 부터 얻은 血清을 56℃에서 30分 동안 加熱하여 補體作用을 除去한 後에 Microtitration Trays(Lymbro Chemical Co.)에 滅菌한 PBS를 25μ씩 連續 稀釋한 後 여기에 1×10^8 의 SRBC를 50μ씩 各各 分注하여 37℃에서 1時間 동안 培養한 後 血清이 發生한 最小 濃度의 값으로 決定하였다.

溶血素價의 測定은 實驗群으로부터 얻은 血清을 56℃에서 30分 동안 加熱하여 補體作用을 除去한 後에 Microtitration Trays에 5% Rabbit complement (PBC 19 : 1 RC)를 25μ씩 分注한 다음 여기에 1×10^8 의 SRBC를 各各 分注하여 37℃에서 1時間 동안 培養한 後 血清이 發生한 最小 濃度의 값으로 決定하였다.

4) 接觸性 過敏反應의 測定⁸⁰⁾

接觸性 過敏反應(Contact Hypersensitivity : CH)의 誘發을 위하여 DNFB(dinitrofluorobenzene, Sigma社)를 抗原으로 使用하였다. Acetone과 Olive oil을 4 : 1의 比率(Volume(V)/Volume(V))로 溶解한 0.5% DNFB 溶液 20μ를 藥物 投與 14日된 實驗群 생쥐의 腹部皮膚에 感作하고 感作 後 4日에 0.2% DNFB 溶液 5μ를 耳輪內面에 各各 塗抹하여 惹起 조치하였다. 腫脹增加率은 Mitutoyo engineer's micrometer을 利用하여 惹起直前과 惹起後 24時間뒤에 各各 測定하여 10^{-4} inch로 나타냈으며, 抑制(Depression)의 百分率은 다음 公式에 의하여 計算하

였다.

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

5) 自然致死細胞(Natural Killer cell : NK cell)의 活性化 測定⁸⁷⁻⁸⁹⁾

a. 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 活性化 測定에 使用하였다. YAC-1細胞는 연속 浮遊培養法으로 維持하였으며, 培養液은 10% Fetal Bovine Serum 과 Penicillin(100ug/ml), Streptomycin(100ug/ml) 및 Gentamycin(100ug/ml)이 添加된 RPMI 1640을 使用하였다.

b. 效果細胞(Effector cell)

藥物이 投與된 實驗群 생쥐들로부터 腹部를 切開하여 spleen를 摘出した 다음 3ml의 HBSS(Ca²⁺, Mg²⁺, -free)가 들어 있는 peridish로 옮긴 후 slide glass로 으개어서 細胞浮遊液을 만들었다. 細胞浮遊液을 mesh로 거른 다음 ficoll-paque를 使用하여 400g로 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 4×10⁶개의 細胞로 適한 후 自然致死細胞 活性化 測定에 使用하였다.

c. 自然致死細胞 活性化 分析

C' FDA의 working solution(150μg/ml)은 C' FDA stock solution(20mg/ml/acetone) 7.5μl를 1ml의 HBSS에 稀釋시켜서 15分以內에 實驗에 使用하였다. 標的細胞의 라벨은 C' FDA의 working solution 1ml에 2×10⁶개의 YAC-1 細胞를 浮遊시켜서 30分間 培養시켰다. 培養후 2ml의 HBSS로 3회 洗滌한 후 自然致死細胞 活性化 測定에 使用하였다. C' FDA에 라벨된 YAC-1細胞는 2-μl RPMI 1640 medium이 들어 있는 5mm round-bottomed polystyrene tube에 效果細胞와 함께 培養하였고 效

果細胞와 標的細胞의 比率는 20 : 1로 하였으며, 融合을 向上시키기 위하여 200g으로 약 30초간 遠心分離시켜 5% CO₂ Incubater 에 37℃에서 培養하였다.

培養은 3時間동안 수행하였으며, 流式細胞分離分析器(Flowcytometer : FCM)로 測定할 때까지 4℃의 暗冷狀態에서 保管하였다. 또한 C' FDA에 라벨된 2×10⁴개의 YAC-1細胞만 200μl RPMI 1640 medium에서 實驗群과 동일한 시간으로 培養하였으며, 이것을 投與對照群으로 使用하였다. YAC-1細胞의 存在率은 Trypan blue(Flow Labs) exclusion 방법과 流式細胞分離分析器로 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 488nm세기로 發光된 Argonion laser beam 200mW 出力에서 分析되었으며, 綠色螢光物質(Fluorescein isothiocynate)은 530nm의 band pass filter에서 選擇적으로 透過感知되었다. 感知된 情報는 Becton Dickinson Immunocytometry System (BDIS, Sunnyvale, California)의 consort 30 program에 의하여 百分率로 計算되었다. 自然致死細胞의 活性化는 다음 公式에 의해 計算되었다.

$$\text{NK Cell Activity}(\%) = \frac{\text{TEO} - \text{TE3}}{\text{TEO}} \times 100$$

TEO=C' FDA로 label된 YAC-1 cell과 effector cell(1 : 20)을 混合하여 培養直前(0時間)의 C' FDA 로 label된 YAC-1 cell 의 數
TE3=C' FDA로 label된 YAC-1 cell과 effector cell(1 : 20)을 混合하여 培養3時間 후의 C' FDA로 label 된 YAC-1 cell의 數

6) 大食細胞의 食食能 分析⁸⁴⁾

(1) 大食細胞의 誘導 및 分離

檢液 投與 14日된 實驗群 생쥐의 상피를 절개한 후 에 腹腔에 滅菌된 HBSS 5ml를 注射하여 Pasteur

pipette으로 腹腔內의 大食細胞를 分離하였다. 分離된 大食細胞는 HBSS로 3回 洗滌한 후 食食能 分析에 使用하였다.

(2) 大食細胞의 食食能 分析

大食細胞의 食食能 測定은 Fluorescein Isothiocyanate (FITC) 로 라벨된 polystyrene latex particle (1.88 μ m, Polysciences, Warrington)을 使用하였다. 5% fetal bovine serum이 添加되어 있는 RPMI 1640 medium에 1 \times 10⁶개의 大食細胞와 5 \times 10⁷개의 fluorescent latex particle 50 μ 를 添加한 후 95% O₂ 및 5% CO₂ 및 濕氣가 充分한 培養器에 45分間 37℃에서 培養하였다. 培養後 2ml의 cold HBSS를 添加한 후 400g로 10分間 遠心分離하여 2回 反復 洗滌하였다. 綠色螢光을 나타내는 大食細胞의 食食能은 流式細胞分離分析器로 測定하였다. 488nm 세기로 發光된 argonion laser beam 200mW 出力에서 分析되었으며, 綠色螢光物質은 530nm의 band pass filter에서 選擇의으로 透過되어 感知되었다. 感知된 情報은 BDIS consort 30 computer program에 의하여 百分率로 計算되었다. 大食細胞의 食食能 測定은 다음 公式에 따랐다.

$$\text{Phagocytic Activity (\%)} = \frac{\text{TEO} - \text{TE45}}{\text{TEO}} \times 100$$

TEO = FITC로 라벨된 latex particle (5 \times 10⁷) 과 大食細胞 (1 \times 10⁶) 를 0時間 培養후 latex particle의 數

TEO45 = FITC로 라벨된 latex particle (5 \times 10⁷) 과 大食細胞 (1 \times 10⁶) 를 45分間 培養후 latex particle의 數

7) Rosette形成細胞 測定^{78, 79, 90)}

Rosette形成細胞 (Rosette Forming Cell : RFC) 의 測定은 Bach等의 方法에 따랐다. 單核細胞 浮遊液은 實驗群의 BALB/C 생쥐로 부터 腹腔을 切開하여

脾臟을 摘出した 후 ficoll-paque을 利用하여 400g로 遠心分離시켜 얻었다. 이렇게 얻은 單核細胞混合浮遊液을 3 \times 10⁷개의 細胞로 準備한 다음 附着細胞를 除去하기 위해서 滅菌된 注射器 (2ml)에 Glass Wool을 體積하여 2ml의 細胞浮遊液을 添加한 후 37℃에서 30分間 培養하였다. 그 후 冷却된 15ml의 HBSS를 계속 해서 注射器에 注入하여 通過시켰다. 이와같이 準備된 淋邑球를 1 \times 10⁶細胞로 適한 후에 1 \times 10⁷SRBC를 混合하여 37℃에서 1時間 동안 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℃ 暗冷狀態에서 12時間 以上 保管한 후 400x顯微鏡 視野에서 淋邑球 한 개당 3개 이상의 SRBC가 附着된 것을 檢鏡하여 決定하였다.

8) 培養中인 大食細胞에서 反應窒素中間物質生成能 測定 (Reactive Nitrogen Intermediate : RNI)⁹¹⁻⁹³⁾

Reactive nitrogen intermediate (RNI)는 大食細胞 특히 생쥐의 腹腔內 大食細胞에서 γ -Interferon (γ -IFN)이나 lipopolysaccharide (LPS, Sigma社) 또는 다른 微生物의 感染에 刺戟받아 L-arginine에 依存的으로 生成되며 이들이 特異的 또는 非特異的 免疫反應에 重要な 役割을 하는 것으로 알려져 있다. RNI는 NO₂, NO₃, NO 등이 있는데 이들은 細胞培養液에 蓄積되기 때문에 蓄積된 RNI를 發色시켜 ELISA reader로 測定하였다.

생쥐의 腹腔大食細胞를 分離한 後 96 well plate에 well당 1-2 \times 10⁵개로 넣어주었다. γ -IFN이나 LPS를 PBS에 녹여 各各의 濃度에 따라 培養細胞에 添加하고 48時間 동안 培養한 後에 각 well로 부터 100 μ 씩의 培養液을 取하여 ELISA Titer Tek plate에 옮긴 후 同量의 Griess Reagent (1:1, v/v, N-1-naphthylethylenediamine 0.1% in H₂O, sulfanilamide 1% in 5% H₃PO₄)를 添加하고 10分間 室溫에 두었다. NO₂는 Titer Tek Multiscan MCC/340 (Flow Lab)으로 540nm에서 吸光度를 測定했다. 이

때 RNI濃도에 對한 standard curve는 NaNO_2 를 serial dilution하여 얻었다.

9) 大食細胞의 反應酸素中間物質 (Reactive Oxygen Intermediate : ROI) 生成能의 測定^{83,84)}

a. 大食細胞의 誘導

藥物이 投與된 생쥐의 腹腔에 滅菌된 PBS로 腹腔을 洗滌하여 大食細胞가 充分한 peritoneal exudate cell (PEC)을 얻었다. PEC는 차가운 PBS로 400g에서 10分間 遠心分離하여 2回 洗滌한 후 veronal buffered saline (VBS, Ca^{2+} , Mg^{2+} , albumin, glucose포함)에 1×10^6 cells/300 μ l가 되도록 적정한 후 chemiluminescence (CL)를 測定하였다.

b. Lucigenin에 의해 誘導된 CL의 測定

PEC單細胞 浮遊液을 Luminometer (LB 9509, Berthold)에서 37 $^{\circ}$ C로 15~30分 동안 前培養시킨 후 O_2 를 測定할 수 있는 chemiluminogenic probe인 10mM의 Lucigenin 10 μ l를 注入하고 安靜化 시킨후 大食細胞를 刺戟시킬 수 있는 5.3 μ M PMA (phorbol

myristate acetate) 10 μ l를 注入하고 37 $^{\circ}$ C條件에서 約 60分間 CL를 測定했다.

c. Luminol 에 의해 誘導된 CL의 測定

PEC單細胞 浮遊液을 Luminometer (LB 9509, Berthold)에서 37 $^{\circ}$ C로 15~30分 동안 前培養시킨 후 H_2O_2 를 測定할 수 있는 chemiluminogenic probe인 10mM의 luminol 10ml를 注入하고 安靜化 시킨후 大食細胞를 刺戟시킬 수 있는 5.3 μ M PMA 10 μ l를 注入하고 37 $^{\circ}$ C條件에서 約 60分間 CL를 測定했다 (Fig. 1).

III. 實驗成績

1. 赤血球凝集素價 및 赤血球溶血素價에 미치는 影響

綿羊赤血球에 대한 凝集素價와 溶血素價를 測定하여 \log_2 값으로 計算하였던 바 Fig. 2-3과 같았다. 凝集素

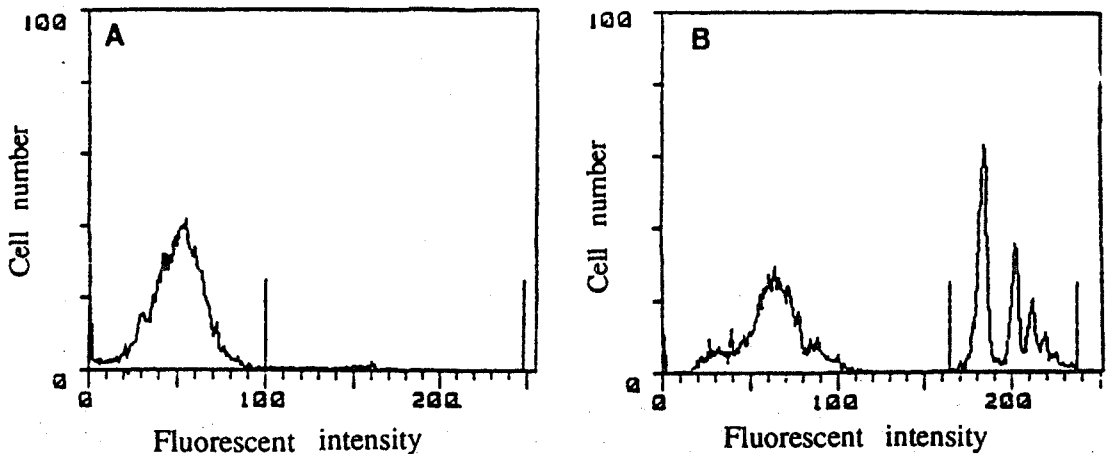


Fig. 1. Typical pattern of phagocytosis. The peritoneal macrophages from normal mouse were incubated with fluorochrome-labelled microbead for 45 min and analysed by flow cytometer. Percent phagocytic activity was calculated according to Consort 30 program of FASstar. As compared with non-phagocytosed macrophages (A), macrophages which had phagocytosed fluorescent microbeads (B) emitted greater fluorescence.

價는 對照群이 8 ± 1 인데 比하여 JB1이 6 ± 0.4 , JB2는 7 ± 0.6 , JB3는 6 ± 0.2 , JB4는 6 ± 0.3 으로 對照群에 比하여 낮은 傾向을 보였다(Fig. 2).

溶血素價는 對照群이 8 ± 1 이며 이에 대하여 JB1는 7 ± 0.6 , JB2는 7 ± 0.4 로 對照群과 큰 差異가 없었으나 JB3는 6 ± 0.5 , JB4는 6 ± 0.4 으로 有意性 있게 減少시켰다(Fig. 3).

2. 接觸性 過敏反應에 미치는 影響

檢液을 생쥐 1마리당 0.1ml씩 14日間 經口投與한 結果, DNFB 感作에 의한 接觸性 過敏反應의 抑制率은 對照群이 83 %에 比하여 JB1, JB2, JB3, JB4모두 抑制나 增加를 보이지 않아 錢氏白朮散의 투여가 생쥐

의 接觸性 過敏反應에는 큰 影響이 없는 것으로 나타났다(Fig. 4).

3. NK 細胞의 活性度에 미치는 影響

YAC-1 target cell을 對象으로 實驗한 結果 對照群은 40 %인데 比하여 JB1, JB2, JB3에는 對照群과 비슷한 傾向을 보였으며, JB4에서 45 %로 약간의 增加가 있었으나 有意性은 인정할 수 없었다(Fig. 5).

4. 大食細胞의 食食能에 미치는 影響

14日間 檢液을 投與한 實驗群 생쥐에서 大食細胞를 分離한 후 FITC로 라벨된 polystyrene latex particle($1.88 \mu\text{m}$)과 같이 培養한 다음, 流式細胞分離

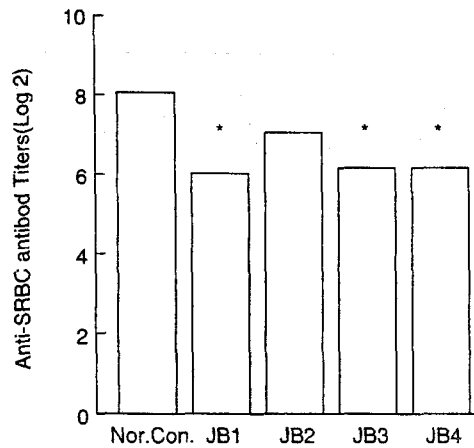


Fig. 2. Effects fo Junsibaekchulsan, on the hemagglutinin titers. Animals were sensitized with SRBC on day 0 and hemagglutinin titers are measured on day 8. Animals were given orally Junsibaekchulsan, from 14 days before sensitization. Data represent the mean of antibody titers \pm S.E. * $P < 0.05$ compared with control.

The components of administered drugs are Normal saline 0.1 ml/day(con)

JB(Junsibaekchulsan) 1 group(JB : DW = 1 : 10) 0. ml/day

JB(Junsibaekchulsan) 2 group(JB : DW = 1 : 5) 0. ml/day

JB(Junsibaekchulsan) 3 group(JB \times 1) 0. ml/day

JB(Junsibaekchulsan) 4 group(JB \times 10) 0. ml/day

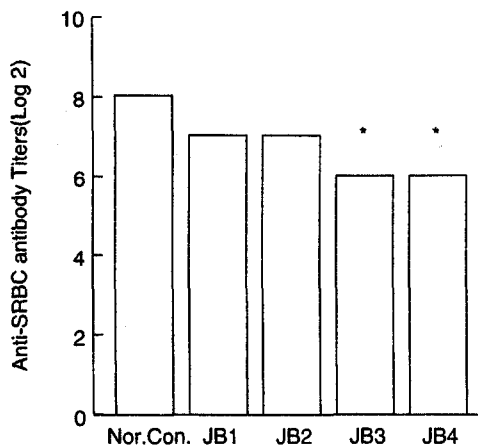


Fig. 3. Effects of Junsibaekchulsan, on the antibody formation against SRBC. Animals were sensitized with SRBC on day 0 and measured hemolysin titers on day 8. Animals were given orally Junsibaekchulsan, from 14 days before sensitization. The components of administered drugs are the same as Fig. 2. Data represent the mean of antibody titers \pm S.E. * $P < 0.05$ compared with control.

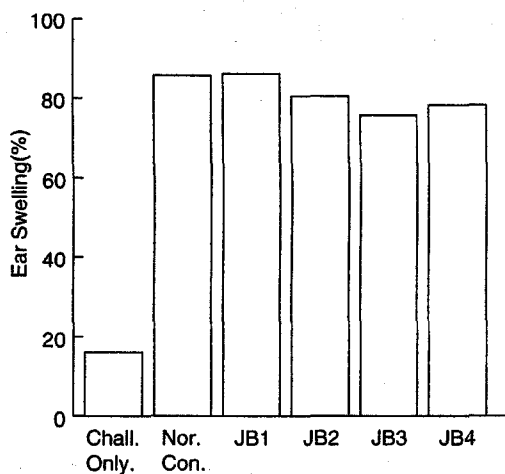


Fig. 4. Effects of Junsibaekchulsan, administration on the contact hypersensitivity responses in mice. Normal BALB/C mice were contact sensitized with 20ml of 0.5% DNFB in a vehicle of 4:1, acetone:olive on day 0. All mice were ear challenged with 5ml of 0.2% DNFB on day 5 and ear swelling was measured 24 hrs later. Data represent the mean depression percentages of ear swelling \pm S.E.

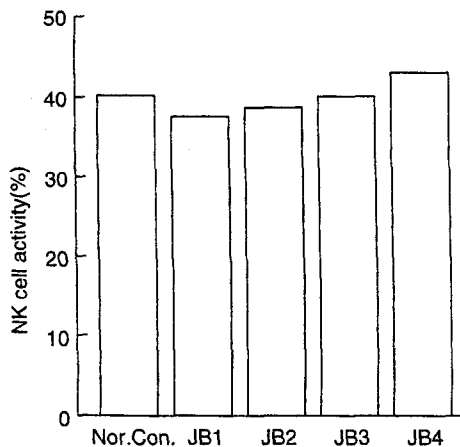


Fig. 5. effects of Junsibaekchulsan, administrations on the NK-cell activity in mice. When effector cells are incubated with C¹⁴FDA-labelled YAC-1 target cells at the ratio of 20 : 1 for 0 h and 3 h, a considerable reduction can not be seen in the number of viable cells. Increment of NK cell activity was not shown in all mouse groups. The components of administered drug are the same as Fig. 2.

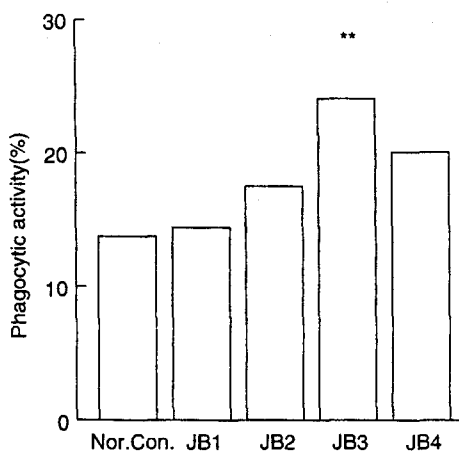


Fig. 6. Effects of Junsibaekchulsan administration on the phagocytic activit. Increment of phagocytic activity was shown in two mouse groups (JB3, JB4). Percent phagocytic activity was calculated accrding to Consort 30 program of FASstar. Data show mean \pm S.E. **P<0.005, *P<0.05 compared with control.

分析器로 大食細胞가 latex particle을 貪食한 活性度를 測定하였던 바, 對照群은 14.0 ± 2 의 活性度를 보였으며 이에 比하여 JB1과 JB2는 對照群과 큰 差異를 보이지 않았으나, JB3는 25 ± 3 , JB4는 20 ± 2 로 錢氏白朮散의 투여에 따른 有意性을 인정할 수 있었다 (Fig. 6).

5. Rosette 形成細胞에 미치는 影響

생쥐로부터 脾臟을 摘出하여 rosette 形成細胞數를 測定하였던 바 Fig. 7과 같았다. 對照群의 10^6 脾臟細胞當 10^3 RFC의 數는 對照群이 40 ± 4 인데 비해, JB1은 40 ± 6 으로 對照群에 비해 差異가 없었으나 JB2, JB3 및 JB4는 各各 50 ± 6 , 65 ± 5 ($P < 0.005$) 및 55 ± 6 ($P < 0.05$)으로 有意性을 認定할 수 있었다 (Fig. 7).

6. 貪食細胞의 反應窒素中間物質 (Reactive Nitrogen Intermediates : RNIs) 生成能에 미치는 影響

錢氏白朮散이 복강내 大食細胞의 RNI生成에 미치는 影響을 調査해 보기 위하여 培養中인 생쥐의 腹腔 大食細胞 (1×10^5 cell/ 200μ l)에 錢氏白朮散을 各 濃度 (A, B, C)에 따라 10μ l/well씩 넣은 후 48時間 培養한 다음 RNI의 生成程度를 測定한 結果 A군에서는 反應窒素中間物質이 20 ± 3 정도 生成되어짐을 확인하였으나, B와 C는 생성되지 않았는데 이것은 처리한 용액의 濃度에 의해 細胞에 損傷을 초래한 것으로 trypan blue exclusion방법에 의하여 측정되었다 (Table 1).

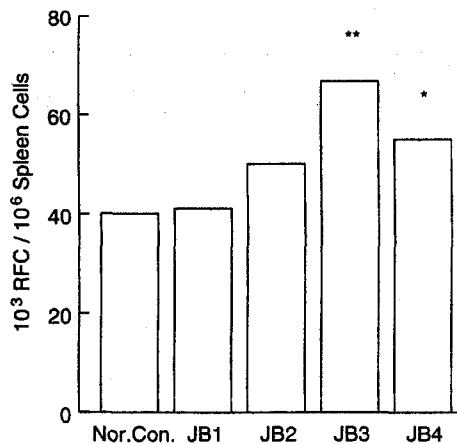


Fig. 7. Effects of Junsobaekchulsan administrations on the appearance of rosette forming cells (RFC) in mice. Mice were immunized with SRBC and spleen cells were assayed for RFC 8days after immunization. Animals were given orally Junsibaekchulsan, for 14 days before sensitization and maintained 8 days after sensitization. The components of administered drug are the same as Fig. 2.. Increment of the rosette formation was achieved in three mouse groups (JB2, JB3 and JB4). Data represent the mean RFC \pm S.E. obtained from a pool of two spleens. ** $P < 0.005$, * $P < 0.05$ compared with control.

Table 1. Effects of Junsibaekchulsan (JB) on the secretion of Nitrite by RAW 264.7 cells.

Treatment	Nitrite Concentration (micromole/L)
none	5>
LPS	20±3
r-IFN	30±5
r-IFN+LPS	55±6**
JB A	20±3*
B	5>
C	5>

* RAW 264.7 cells (1×10^5 cells/ml) were incubated for 48 hr with various concentration of JB, r-IFN, LPS or r-IFN plus LPS. NO_2^- was measured spectrophotometrically as described in Materials and Methods. Values are expressed as micromoles of NO_2^- per liter. Each point of the above data represents the means±SE of three similar experiments. The components of administered drug are as follows. **P<0.005, *P<0.05.

Junsibaekchulsan (JB) : A-1×JB : DW=1 : 100 B-1×JB : DW=1 : 10 C-1×JB : DW=1

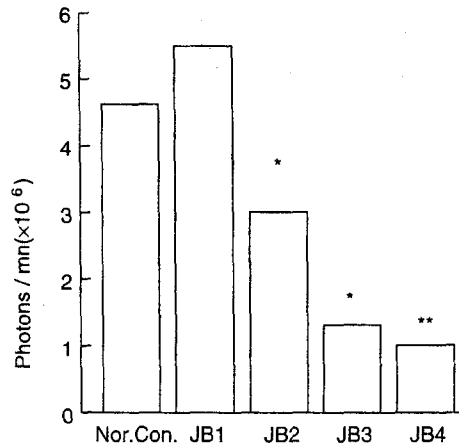


Fig. 8. In vivo effects of Junsibaekchulsan administrations on the superoxide radical formation. Animals were given the drug orally for 14 days. The components of administered drug are the same as Fig. 2. Chemiluminescent probe used was 10mM of lucigenin (10,10'-dimethyl-9,9-biacridinium : DBN2+), which is amplifying superoxide radicals. Murine peritoneal macrophages (1.5×10^6 cells/300 μ l) were stimulated by 5.3 μ M phorbol myristate acetate (PMA), and measurement of superoxide radical was carried out in the chemiluminescence counter for 60 min at 37°C. Significant inhibition was shown in three mouse groups (JB2, JB3, and JB4). Data show mean ± S.E. **P<0.005, *P<0.05 compared with

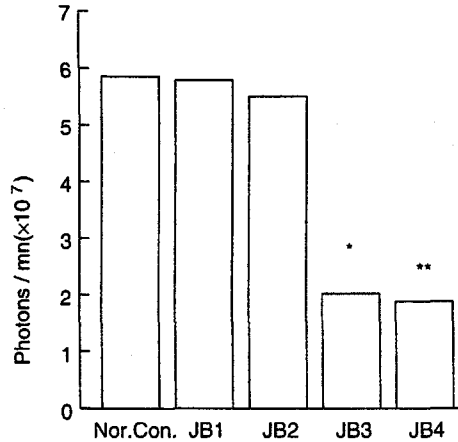


Fig. 9. In vivo effects of Junsibaekchulsan administrations on the hydrogen peroxide radical formation. Animals were given the drug orally for 14 days. The components of administered drug are the same as Fig. 2. Chemiluminescent probe used was 10mM of luminol (5-amino-2,3-dihydro 1,4-phthalazinedione), which is amplifying hydrogen peroxide radicals. Peritoneal macrophages (1×10^6 cells/ $300 \mu\text{l}$) were stimulated by $5.3 \mu\text{M}$ phorbol myristate acetate (PMA), and measurement of hydrogen peroxide radical was carried out in the chemiluminescence counter for 60 min at 37°C . Significant inhibition was shown in two mouse groups (JB3 and JB4). Data show mean \pm S.E. ** $P < 0.005$, * $P < 0.05$ compared with control.

7. 食細胞의 反應酸素中間物質(Reactive Oxygen Intermediates : ROIs) 生成能에 미치는 影響

Lucigenin에 의해 誘導된 大食細胞의 活性도를 $\text{CMP} \times 10^5$ 값으로 計算한 結果, 對照群은 $4.59 \pm 0.3 \times 10^6$ 인데 比하여 JB1은 $5.5 \pm 0.3 \times 10^6$, JB2는 $3.2 \pm 0.2 \times 10^6$, JB3는 $1.1 \pm 0.2 \times 10^6$ 이었고 JB4는 $8.6 \pm 0.3 \times 10^5$ 으로 濃度에 依存的으로 各各 有意性있게 減少하는 傾向을 보였다(Fig. 8). luminol에 의해 誘導된 大食細胞의 活性도를 $\text{CMP} \times 10^7$ 값으로 計算한 結果, 對照群은 $5.8 \pm 0.3 \times 10^7$ 인데 比하여 JB1은 $5.8 \pm 0.4 \times 10^7$, JB2는 $5.5 \pm 0.5 \times 10^7$ 이며 JB3는 $2.1 \pm 0.4 \times 10^7$, JB4는 $2.0 \pm 0.4 \times 10^7$ 으로, lucigenin으로

유도한 CL과 같이 濃度에 依存的으로 減少하는 傾向을 보였다(Fig. 9).

IV. 考 察

恒常 變化하고 있는 生物學的 環境 속에서 個體內部 環境의 恒常성이 維持되는 것은 自然抵抗性和 獲得抵抗性を 包括하는 生體防禦機構인 免疫系를 所有하기 때문이다. 韓醫學에서는 疾病의 發生과 進展을 人體의 正氣와 發病因子인 邪氣의 抗爭 및 消長進退의 過程으로 그 病理를 說明하였는데⁷³⁾ 發病의 成立過程중에서

그 關鍵은 致病 素因인 邪氣라기 보다는 오히려 防禦 因子인 正氣에 달려 있어서 正氣의 虛損을 더욱 중요 시하였다. 이는 現代 免疫學에서 自然抵抗性아르 중요 시하는 것과 一致한다고 볼 수 있다.^{31,32)}

素問 刺法論에 “正氣存內 邪不可干”이라 하였는데, 이때 正氣란 臟腑, 經絡, 榮衛, 氣血의 正常生理機能을 包括한 人體內의 모든 抗病能力을 뜻하며 正常免疫機能의 概念과 有關하다.³⁴⁾ 이는 章³⁵⁾의 虛證과 實證 病人의 免疫狀態에 대한 報告에서 正氣가 虛한 患者의 免疫機能이 低下되어 있음을 나타낸 것과 相通한다고 볼 수 있다. 正氣의 生成과 分포에는 脾, 肺, 腎, 三臟과 有關하므로³⁶⁾ 脾, 肺, 腎은 免疫과 關聯된다고 볼 수 있는데,³⁷⁾ 後天之本이오 氣血化生之源인 脾胃와 免疫과의 관계에 대해서 살펴보면, 靈樞 決氣篇³³⁾에 “中焦受氣取汁 變化而赤 是謂血”이라 하였으며, 李⁴⁾는 “脾胃之氣 既傷而元氣亦不能充而諸病之所由生也”라 하였고, 張²⁵⁾은 “四季脾旺 不受邪”, “脾爲之衛”³³⁾라 하여 脾가 臟腑의 正常機能을 維持시키고 元氣를 刺戟 增強하여 病邪를 抗禦하는 能力을 갖추고 있어서 免疫系의 機能과 有關함을 나타냈다.

錢氏白朮散은 四君子湯에 葛根, 藿香, 木香을 加해서 만들어진 처방으로서 四君子湯으로 補脾益氣를 꾀하고 거기다가 理氣시키는 木香, 藿香과 解肌熱하는 葛根이 配合된 方劑이다.¹⁶⁾ 構成藥物의 氣味와 效能 및 歸經에 對하여 살펴보면^{5,16,21,38,42)} 人蔘은 甘微苦微溫 無毒 入肺脾하고 大補元氣 補脾益氣 瀉火除煩 生津止渴 하며, 白朮은 溫無毒 甘苦味 入脾胃하고 補脾益氣 燥濕 利水 生津液 止泄瀉하며, 白茯苓은 平無毒 甘淡味 入腎 脾肺하고 利水滲濕 健脾補中하며, 甘草는 平無毒 甘味 入肺脾胃하고 補脾益氣 清熱解毒 潤肺止咳 調和諸藥한다. 藿香은 味溫無毒 辛味 入肺脾胃하고 快氣和中 開胃 止吐 去惡氣 醒脾化濕하며, 木香은 溫無毒 辛苦味 入肺 肝脾하고 行氣止痛 健脾消食 止痢하며, 葛根은 平無毒 甘辛味 入脾胃하고 其氣가 輕浮하여 鼓舞胃氣 上行津

液하며 解肌熱 升陽止瀉하므로 以上 7種의 藥物의 氣는 平溫하고 苦甘辛하며, 歸經은 주로 脾胃로서 補氣 健脾益氣 生津止渴 升陽止瀉 醒脾 除濕하는 藥物로 構成되어 있는 바, 胃腸이 虛弱한 小兒의 吐乳나 泄瀉로 말미암아 津液이 乾하여서 發熱 口渴을 일으키거나 傷寒후에 餘熱이 未淨하여 發生하는 泄瀉^{10,16)} 또는 大病, 大吐, 大瀉 後나 急驚이 特久不差하여 慢驚이 發할 때 補氣消痰을 목적으로 사용하는⁷¹⁾ 등 慢性 消化器疾患 및 脾胃虛弱으로 인한 諸般病證에 활용되고 있다.

錢氏白朮散을 構成하는 個別藥物의 免疫學的 效果를 살펴보면, 人蔘에 대하여 singh⁴³⁾, Yu⁴⁴⁾ 宮⁴⁵⁾, 森澤⁴⁶⁾, 高^{47-52,76)} 등은 免疫調節效果(immunomodulatory activity)를, 高⁴⁷⁻⁵²⁾ 등은 細胞性 및 體液性 免疫調節效果를 報告하였다. 또한, 河⁵¹⁾, 鄧^{53,54)}, 王⁵⁹⁾은 細網內皮系 食食能의 增強效果를, 徐⁵⁵⁾와 유⁵⁶⁾는 x-線 照射에 의해 傷害된 皮膚肥滿細胞의 再生促進을 전⁵⁷⁾은 Stress에 의해 損傷된 생쥐의 淋巴組織을 더 빨리 回復시킨다고 報告하였다. 白朮에 關하여 羅⁶⁰⁾는 細胞性 및 體液性 免疫反應增強을, 王⁵⁹⁾, 邱⁶¹⁾는 抗癌免疫反應의 強化를 報告하였다. 甘草에 關한 免疫學的 報告는 R. S. H⁶²⁾, 韓⁶³⁾, 熊谷⁶⁴⁾은 免疫調節作用을, 王^{59,65,66)} 등이 免疫抑制作用을, 江田⁶⁸⁾ 등은 受動性 皮膚過敏反應에 대한 抑制效果를 報告하였다. 茯苓에 關하여 王⁵⁹⁾은 細胞性 및 體液性 免疫增強效果를, 許⁶⁸⁾와 金山⁶⁹⁾ 등은 抗癌效果가 있음을 報告하였으나, 葛根, 藿香, 木香 등의 個別藥物에 關한 免疫學的 研究 報告에 대해서는 接한 바 없다. 그러나, 錢氏白朮散을 構成하고 있는 藥物이 免疫系에 미치는 影響을 볼 때, 急性腸炎후 續發하는 慢性泄瀉나 過敏性 腸症候群과 같은 慢性 非特異性泄瀉 및 알레르기성 泄瀉등의 脾虛泄瀉에 활용할 수 있을 것으로 思料된다.

脾虛泄瀉의 原因은 小兒의 體質이 本來 虛弱한데다가 飲食不調로 日久傷脾하여 脾土衰弱으로 健運의 機能을 잃은 것으로, 便에 乳片이나 飲食殘渣가 있으며

每食後에 泄瀉하는데 脾虛가 극히 심하면 滑泄不止하기도 하며^{3,7,72,74}, 慢性的으로 移行하여 慢驚風이나 疳證을 나타낼 수 있다. 初期에 흔히 外感이 있거나 혹은 積滯가 있거나 혹은 두가지가 겸하여 있으며 病程이 비교적 길어서 二個月 이상이거나 심한 경우는 수년동안 不癒한 경우도 있고, 升降失調하고 寒熱錯雜하여 本虛表實한 症候를 나타내기도 한다⁷⁵. 健脾化濕을 治療原則으로 삼고 消導, 清熱, 溫中, 補脾등의 治法을 선택하여 取하는데⁷⁶ 이는 錢氏白朮散의 方義와 相通한다.

嬰兒期에서 흔히 腸內感染으로 인한 急性 胃腸管炎을 앓으면 대개 수일 정도 泄瀉를 지속하다가 자연히 회복되는 것이 보통이나, 어떤 患兒는 임상적으로 회복기에 들어섰는데도 우유를 먹이기 시작하면 泄瀉를 계속 다시 하며 결국 慢性泄瀉症으로 이행하는 경우가 있다²³. 洋醫學的으로 嬰兒慢性泄瀉의 原因은 腸炎으로 粘膜損傷이 생겨 續發性 lactase결핍에 의한 乳糖不耐性인 경우^{23,77}와 손상된 小腸粘膜을 통해 牛乳蛋白 抗原의 透過가 增加하여 생기는 續發性 牛乳蛋白 알레르기로 인한 경우가 있다. 牛乳蛋白質에서 알레르기와 관련이 깊은 것은 α -casein과 β -lactoglobulin으로 열처리에 의해서도 그대로 抗原성을 유지할 뿐만 아니라, 오히려 抗原이 항진되고 消化 酵素에 의해 새로운 抗原성을 형성하기도 한다²³.

정상상태에서는 牛乳蛋白등 飲食抗原은 'Gut mucosal barrier'에 의해 腸粘膜 透過가 저지되는데 腸粘膜이 損傷된 경우에는 대량의 抗原이 흡수되어 알레르기 증상을 심화시킨다. 泄瀉가 慢性化되면 營養障礙와 吸收障礙가 뒤따르게 되어 악순환으로 痼疾의 泄瀉가 될 수 있는데 이때는 免疫機能에 障礙가 오고 細菌感染이 잘 되며 심한 경우는 사망한다²³.

어느 特定物質에 대한 免疫反應은 림프구에 의한 認識으로부터 시작하여 貪食細胞에 의한 身體內部에서의 제거로 個體 內部環境의 恒常性이 유지되며 이러한 內

部環境의 恒常性 유지기능이야말로 免疫系의 임무라고 볼 수 있다. 그러나 免疫系의 T 細胞나 B 細胞가 個體內部에서 正常組織이나 細胞 또는 飲食成分이나 꽃가루 등을 異物質로 認識할 경우 自家免疫性 질환이나 음식알레르기 등 개체를 괴롭히는 질병을 야기할 수 있다. 그러므로, 亢進된 免疫反應을 抑制해야 할 필요가 있는데 이러한 목적으로 개발되어 쓰이는 대부분의 免疫抑制劑는 림프구 전체에 細胞毒성을 주어 細胞性 免疫反應 뿐만 아니라 體液性 免疫까지도 抑制시키므로 個體가 感染病에 移患되게끔 한다. 그러므로 免疫不全症을 야기시키지 않으면서 免疫反應을 조절할 수 있는 약제의 개발은 시급한 실정이다.

綿羊赤血球에 대한 凝集素價 및 溶血素價는 容易하게 抗體를 代辯하는 方法으로 凝集素價는 赤血球 表面 抗原과 그에 대한 抗體와의 結合에 대하여 생기는 凝集反應을, 溶血素價는 赤血球 表面抗原과 抗體의 結合體에 二重의 補體가 加해짐으로서 생기는 溶血反應을 測定하는 方法이다. 本 實驗에서 錢氏白朮散 煎湯液을 생쥐에 投與한 結果 凝集素價는 實驗群 모두에서 對照群보다 $p < 0.05$ 로 낮은 傾向을 보였고 (Fig. 2), 溶血素價는 對照群에 비해 JB1, JB2群은 큰 差異가 없었으나, JB3, JB4群은 $p < 0.05$ 로 有意性 있게 減少시킨 것으로 보아 (Fig. 3), 생쥐의 抗體 形成能이 實驗群에서 전반적으로 減少하였다. 이것으로 錢氏白朮散은 抗體에 의하여 誘發되는 알레르기성 疾患에 有效할 것으로 생각된다.

接觸性 過敏反應에 미치는 影響을 測定한 結果 對照群에 비해 增加나 抑制를 보이지 않았으므로 (Fig. 4), T 細胞에 의해서 매개되어지는 細胞性 免疫反應에는 크게 影響을 미치지 않는 것으로 思料되며, Rosette 形成細胞에 미치는 影響은 效果 B 細胞 및 效果 T 細胞로 推測 되는 Rosette 形成細胞의 數를 測定하는데, JB1에서는 對照群과 差異가 없었으나, JB2, JB4는 $p < 0.05$ 로, JB3는 $p < 0.05$ 로 有意性 있게 增加를 보

이고 있어서(Fig. 7) 體液性 免疫反應은 減少되었지만(Fig. 2, 3) SRBC에 대해 特異적으로 認識할 수 있는 B-cell clone이 增加한 것으로 보아 B 細胞의 抗原 認知에는 抑制效果가 없을 뿐 아니라 오히려 亢進시키는 것으로 思料된다.

先天性 免疫反應의 一種인 自然致死細胞의 活性化를 測定한 바, 對照群과 비슷한 傾向을 보여 有意性を 認定할 수 없으므로(Fig. 5) 非特異的 抗原의 認知에는 影響을 미치지 않은 것으로 나타났다.

食食細胞의 食食能에 미치는 效果를 觀察한 바(Fig. 6), JB1, JB2는 對照群과 큰 差異를 보이지 않았으나 JB3는 $p < 0.005$ 로, JB4는 $p < 0.05$ 로 有意性 있게 增加시키고 있는 것으로 보아, 體液性 免疫能의 減少에 따른 개체의 免疫能 저하로 인한 感染의 위험을 減少시키는 理由일 것으로 思料된다.

食食細胞가 細菌을 食食한 境遇 細菌은 여러 方法을 써서 食食細胞內에서도 生存하려고 努力하고 食食細胞는 食食細胞대로 食食된 細菌을 死滅시키기 위한 方法으로, 反應酸素中間物質(Reactive Oxygen Intermediate: ROI)을 生成한다. 즉 食食細胞가 細菌을 食食할 때 NADP Oxydase가 活性化되어 酸素이온이 水素이온을 轉移시킴으로 酸素이온(O_2) 혹은 過酸化水素(H_2O_2) 등의 反應酸素中間物質이 生成되는데 이렇게 生成된 反應酸素中間物質은 強力한 殺菌作用을 나타낸다고 보고되었다. 그런데, 反應酸素中間物質이 연속 長期的으로 많이 만들어지면 個體는 細菌을 死滅하는 作用 외에 正常組織 損傷을 誘發하여 오히려 病的狀態를 일으킬 수 있는 것이다^{83, 84}.

本 實驗에서는 O_2 증폭제인 lucigenin과 H_2O_2 증폭제인 luminol을 添加하여 化學發光(chemiluminescence)으로 그 活性化를 測定한 바 lucigenin에 의해 誘導된 大食細胞의 活性化는 對照群에 비해 JB2, JB3는 $p < 0.05$ 로, JB4는 $p < 0.005$ 로 有意性 있게 減少하였고, luminol에 의해 誘導된 大食細胞의

活性化 역시 JB3, JB4는 $p < 0.05$ 로 有意性 있는 減少效果가 있었다.(Fig. 8, 9). 그러므로 反應酸素中間物質에 의하여 매개되어지는 炎症이나 알레르기성 疾患을 治療하는데 效果가 있을 것으로 思料된다.

最近 中樞神經系에서는 神經傳達物質로 役割하고 循環器系에는 細胞內細菌의 成長을 抑制시키는 物質이 nitric oxide(NO)라는 事實이 밝혀졌으며^{85, 86}, 이를 反應窒素中間物質(Reactive Nitrogen Intermediate: RNI)이라 하는데, 反應窒素中間物質에 의한 組織損傷의 抑制나 微生物과 腫瘍의 死滅力에 效果를 나타낸다. RNI 生成에 미치는 影響을 조사한 바(Table 1), A群에서는 反應窒素中間物質이 生成되었으나, B群과 C群은 細胞損傷으로 인해 生成되지 않았다.

以上の 實驗結果에 의하면 錢氏白朮散을 생쥐에 投與한 결과 Fig. 2-3 에서 보는바와 같이 體液性 免疫反應은 抑制 되었지만 Fig. 4-10에서는 細胞性 免疫反應과 先天的 免疫反應에 影響을 미치지 아니하였으며, 오히려 大食細胞의 食食能이나 脾臟細胞의 Rosette 形成能 및 反應窒素中間物質의 生成을 增加시키는 것으로 보아 전반적인 免疫能은 어느 정도 亢進시킴을 알 수 있었다. 그러므로 錢氏白朮散은 抗體의 매개에 의한 알레르기성 疾患에는 效果가 있으면서 다른 免疫反應에는 影響을 미치지 아니하므로 免疫不全症을 야기하지 않으면서 알레르기와 같은 免疫反應이 亢進되어 초래되는 疾患에 有效하리라고 생각되어지며, 또한 組織이나 細胞損傷을 심히 일으키는 反應窒素中間物質을 抑制시킴으로서 抗體形成의 抑制와 함께 免疫反應에 의한 組織損傷을 막아줄 수 있을 것으로 思料된다.

V. 結 論

錢氏白朮散의 投與가 個體의 細胞性 免疫反應에 미치는 影響은 DNFB에 대한 遲延性 過敏反應으로 測定하였고, 體液性 免疫反應에 미치는 影響은 綿羊赤血球에 對한 凝集素價 및 溶血素價로 測定하였으며, 그 외 脾臟細胞가 綿羊赤血球와 이루는 rosette形成細胞를 測定하였다. 또한 先天性 免疫反應은 單核食細胞系의 反應窒素 및 反應酸素 中間物質 生成에 미치는 影響을 觀察함과 同時에 自然致死細胞의 YAC-1 細胞에 對한 細胞毒性的 測定과 食細胞의 食食能을 測定한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 錢氏白朮散의 投與는 SRBC에 對한 溶血反應과 凝集反應에서 抗體 生産을 抑制시켰다.
2. 錢氏白朮散의 投與는 DNFB에 依한 接觸性過敏反應에는 影響을 미치지 않았다.
3. 錢氏白朮散의 投與는 NK cell의 癌細胞 破壞能에는 影響을 미치지 않았다.
4. 錢氏白朮散의 投與는 腹腔內 大食細胞의 食食能을 有意性 있게 增加시켰다.
5. 錢氏白朮散의 投與는 綿羊赤血球와 이루는 Rosette形成能을 有意性있게 增加시켰다.
6. 錢氏白朮散은 試驗管內에서는 腹腔內 大食細胞의 RNIs生産을 誘導할 수 있었으나 PMA에 의한 抑制된 생쥐 大食細胞의 ROIs形成을 抑制시켰다.

以上的 實驗結果로 보아 錢氏白朮散은 細胞性 免疫反應과 先天性 免疫反應에는 影響을 미치지 않고 體液性 免疫反應에만 效果的으로 影響을 미쳤으므로 이에 關與하는 食餌性 알레르기과 같은 알레르기성 疾患의 治療劑로 使用될 수 있을 것으로 思料된다.

參 考 文 獻

1. 錢乙：小兒藥證直訣，江蘇科學技術研究所，江蘇，pp.49~50, 1983.
2. 陳師文：太平惠民和劑局方，旋風出版社，台北，p.22, 1975.
3. 泰景明：幼科金鍼，新文豐出版公司，台北，pp.23~24, 1977
4. 王大綸，沈金鼈：嬰童類萃 婦科玉尺合本，翰成社，서울，p.144, 1984
5. 王伯岳，江育仁：中醫兒科學，人民衛生出版社，北京，p.137, 1984.
6. 陳復正：幼幼集成，上海科學技術出版社，上海，p.126,128, 1962.
7. 上海中醫學院：中醫兒科學，商務印書館，上海，pp.83~88, 1975.
8. 彭不仁：中華名醫方劑大全，金盾出版社，北京，p.200, 1990.
9. 吳謙：醫宗金鑑，大成出版社，서울，卷二十六 pp.28~29, 1983.
10. 黃度淵：方藥合編，南山堂，서울，pp.46~47, 1987.
11. 龔信，龔延賢：古今醫鑑，江西科學技術出版社，江西，p.373, 1990.
12. 魯伯嗣：嬰童百問，上海書店，上海，pp.219~224, 1985.
13. 許浚：東醫寶鑑，南山堂，서울，p.641, 1980.
14. 李東垣：東垣十種醫書，五洲出版社，台北，脾胃論 卷上，p.1, 卷下，p.1, 1981.
15. 崔奎憲：小兒醫方，杏林出版社，서울，pp.35~36, 1979.
16. 申載鏞：方醫合編解說，成輔社，서울，pp.90~91, 1978.

17. 朱震亨：丹溪心法附錄(下冊)，五洲出版社，台北，pp. 79~799, 1969.
18. 吳克潛：吳氏兒科學，新文豐出版公司，台北，p. 352, 1977.
19. 康明吉：濟衆新編，여강출판사，서울，p. 495, 1965.
20. 尹吉榮：東醫方劑學，高文社，서울，p. 182, 1964.
21. 朴盛洙，廉泰煥：現代漢方講座，杏林書院，서울，p. 199, 1975.
22. 陳貴延，楊思澍：實用中西醫結合診斷治療學，中國醫藥科技出版社，北京，pp. 1073~1077, 1991.
23. 洪彰義：小兒科學，大韓教科書株式會社，서울，pp. 1078~1100, 1993.
24. 黃道淵：醫宗損益(上)，醫藥社，서울，p. 164, 1976.
25. 張仲景：仲景全書，集文書局，台北，p. 333, 1978.
26. 金連燮：白朮散이 白鼠 十二指腸 粘膜 杯狀細胞에 미치는 影響，慶熙大學校 大學院 碩士學位論文，서울，1985.
27. 裴鍾仁：錢氏白朮散 加柯子가 흰쥐의 胃腸管에 미치는 影響，東國大學校 大學院 碩士學位論文，경주，1989.
28. 金聖勳：四君子湯，四物湯 및 八物湯이 Prednisolone으로 誘導된 생쥐의 免疫反應 低下에 미치는 影響，경희대학교 大學院 博士學位論文，서울，1987.
29. 林圭庠：四君子湯 煎湯液이 家兔의 生體活性에 미치는 影響，圓光大學校 大學院 博士學位 論文，이리，1988.
30. 李南九，李昌鉉，朱榮丞：四君子湯이 생쥐의 免疫反應 및 NK細胞毒性에 미치는 影響，大韓韓醫學會誌，서울，pp. 115~125, 1989.
31. 趙鍾寬：免役에 관한 東洋醫學의 考察，東洋醫學，12(1)：20, 1986.
32. 嚴宗正：正邪論新釋，新中醫，6：5~6, 1984.
33. 張隱庵，馬元臺：黃帝內經，臺聯民國風出版社，臺北，p. 439, 1977.
34. 傅芳：中醫免役思想及成就，中醫雜誌，北京，11：55~57, 1984.
35. 章育正等：實驗研究 虛證和實證病因的免疫狀態，中醫藥雜誌，上海，6：44~46, 1984.
36. 金完熙等：臟腑辨證論治，成輔社，서울，pp. 50~55, 1985.
37. 具本泓：免疫과 알레르기，大韓韓醫學會誌，11(2)：9, 1990.
38. 李時珍：本草綱目，人民衛生出版社，北京，pp. 691~695, 699~709, 711, 733~737, 855~857, 901, 1275~1279, 1982.
39. 上海中醫學院：中草藥學，商務印書館香港分館，香港，pp. 54~55, 214~217, 226~228, 355~356, 511~514, 520, 525~526, 1975.
40. 申信求：申氏本草學，壽文社，서울，pp. 12~13, 17, 227, 357, 491, 593, 1987.
41. 江蘇新醫學院：中醫大辭典，上海科學技術出版社，上海，pp. 29~35, 357~358, 567~573, 670~674, 1596~1599, 2307~2309, 2710~2712, 1977.
42. 辛民教：原色臨床本草學，南山堂，서울，pp. 166~177, 172~173, 250~252, 387~388, 413~414, 537~538, 1986.
43. Singh, V.K. et al. : Immunomodulatory activity of Panax Ginseng extract. Planta Med., 50 : 462~464, 1984.
44. Yu Han Jie, et al. : Immunomodulatory effects of Panax Ginseng C.A Meyer in the small mouse. Agent and Action, 15 :

- 386~391, 1984.
45. 宮 武 외 4人: 人蔘對細胞免疫功能的影響, 中草學, 天津, 15(1): 23~24, 1984.
 46. 森澤 成司: 免疫系에 對する藥用人蔘의 作用, 藥用人蔘, 東京, 16: 188~196, 1989.
 47. 高敬錫: 人蔘水針이 Methotrexate를 投與한 생쥐의 免疫機能에 미치는 影響, 慶熙大學校 大學院 博士學位 論文, 서울, 1988.
 48. 高炳熙, 宋一炳: 鹿茸 熟地黃 人蔘 五加皮가 免疫反應 및 NK 細胞 活性度에 미치는 影響, 慶熙大學校 論文集, 서울, 9: 193~216, 1986.
 49. 金聖洙, 安圭錫, 金光湖: 人蔘 및 熟地黃이 Methotrexate로 誘發된 생쥐의 免疫機能低下에 미치는 影響, 慶熙韓醫大 論文集, 서울, 9: 335~366, 1986.
 50. 張敬善: 人蔘과 黃芪가 白鼠의 遲延性過敏反應 및 抗體形成能에 미치는 影響, 圓光韓醫大 論文集, 이리, 2: 418~419, 1984.
 51. 河大有, 李正鎭: 人蔘에 관한 細菌學 및 免疫學的研究, 大韓免疫學會誌, 서울, 1(1): 45~52, 1979.
 52. 吳宰性: 水蔘, 白蔘 및 紅蔘이 細胞性 免疫反應 및 體液性 免疫反應에 미치는 影響, 慶熙大學校 大學院 碩士學位論文, 1986.
 53. 鄧文龍 외 5人: 人蔘對網狀內皮系統吞噬功能影響的研究, 中醫雜誌, 北京, 7: 66~69, 1983.
 54. 鄧文龍 외 3人: 人蔘莖葉皂角對網狀內皮系統吞噬功能的影響, 中草學, 天津, 5(16): 28~31, 1985.
 55. 徐丙虎: 人蔘抽出物이 x-線照射에 依한 흰쥐 皮膚肥滿에 미치는 影響, 最新醫學, 12(2): 64~74, 1969.
 56. 유일성: 人蔘이 正常 흰쥐 및 x-線 照射를 받은 흰쥐 皮膚肥滿細胞에 미치는 影響, 카톨릭大學醫學部論文輯, 서울, 15: 1~10, 1968.
 57. 진중수: 人蔘이 疼痛 및 正常 또는 스트레스를 받은 생쥐 淋巴組織에 미치는 影響, 카톨릭大學醫學部論文輯, 서울, 19: 317~327, 1969.
 58. 李仙熙: 高麗 人蔘中 petroleum ether抽出物이 人體癌細胞의 增殖 抑制에 미치는 影響, 淑明女子大學校 大學院 理學博士學位論文, 서울, 1985.
 59. 王浴生: 中藥藥理與應用, 人民衛生出版社, 北京, p. 24, 267, 328, 768, 1983.
 60. 羅暎杰: 白朮과 枸杞子가 생쥐의 細胞性 및 體液性 免疫反應에 미치는 影響, 慶熙大學校 碩士學位論文, 서울, 1987.
 61. 邱佳信 외 5人: 健脾中藥防治消化道惡性腫瘤的作用原理研究, 中醫學雜誌, 上海, 6: 45~47, 1987.
 62. R. S. H Finney et al: The anti-inflammatory activity of Glycyrrhetic acid and derivatives J. Pharm., 10: 613~619, 1958.
 63. 韓宗鉉: 甘草의 免疫調節作用에 관한 研究, 全州 又石大學大學院 博士學位論文, 全州, 1991.
 64. 態谷 朗, 高田 優: 免疫反應에 及ぼす甘草有效成分의 調節效果, 和漢藥, シンポジウム 11: 79~83, 1978.
 65. 八倉隆保, 寺西 強, 由村雄: 甘草成分의 免疫抑制效果에 關する 研究, 和漢藥, シンポジウム 11: 73~78, 1978.
 66. 高田 優, 態谷 朗: 甘草抽出物による 免疫抑制, アレルギー 24: 151~158, 1975.
 67. 江田 昭英, 永井 博式, 松浦 直資: 和漢藥의 抗アレルギー作用, 日藥理誌, 80: 31~41, 1982.
 68. 許青媛: 常用老年保健中藥, 人民衛生出版公司, 北京, pp. 2~6, 18~19, 23~27, 29~31, 32~33, 49~50, 142~143, 1986.
 69. 金山久節 외 4人: ブクリョウ菌絲體의 抗腫瘍性多

- 糖に関する研究(第1報), 抗腫瘍性多糖 H11の分割精劑, 藥學雜誌, 106(3) : 199~205, 1986.
70. 中山醫學院: 中藥臨床應用, 廣東人民出版社, 廣東省, pp.34~35, 136~138, 209~210, 229~230, 321~325, 338~340, 1975.
71. 尹吉榮: 東西臨床方劑學, 明寶出版社, 서울, pp.544~545, 1985.
72. 上海科學技術出版部: 實用中醫內科學, 上海科學技術出版社, 上海, pp.238~239, 1986.
73. 上海中醫學院: 中醫學基礎, 商務印書館香港分館, 香港, p.109, 1975.
74. 丁奎萬: 東醫小兒科學, 杏林出版, 서울, p.211, 1988.
75. 史方奇, 謝輔弼: 小兒脾虛久瀉的臨床經驗, 中醫雜誌, 北京, 7: 14~15, 984.
76. 楊醫業: 中醫學問答(下冊), 人民衛生出版社, 北京, pp.300~302, 1985.
77. 李尙柱: 小兒科 概要, 현문사, 서울, p.258, 1991.
78. Biozzi, G., Stiffel, C., Mounton, D., Bouthiller, Y. and Decrusefound, C. : A kinetic study of antibody producing cells in the spleen of mice immunized intravenously with sheep erythrocytes, Immunol. 14:7, 1968.
79. Miller, T.E. et al. : Immunopotential with BCGII, modulation of the response to sheep red blood cells, J. Nat. Cancer Inst., 51:16669, 1973.
80. Chung, H.T., Samlowski, W.E., and Daynes, R.A. : Modification of the murine immune system by glucocorticosteroids of circulation lymphocytes cell. Immunol., 101:571~587, 1986.
81. Zaalberg, O. B. : A Simple method of detection single antibody forming cells, Nature, 202:1231, 1964.
82. McGrinnes, K., Chopman, G., Marks, R. and Penny R. : A fluorescence NK assay using flow cytometry. J. Immunol., Meth., 86:7~15, 1986.
83. 서울대학교의과대학: 면역학, 서울대학교출판부, 서울, pp.27~42, 271~286, 1989.
84. Seymour J. Klebanoff: Basic Principles and Clinical Correlates, 28:541~569, 1992.
85. Cox, G.W., Melillo, G., et al. : Tumor necrosis factor- α -dependent production of reactive nitrogen intermediates IFN- γ plus il-2-induced murine macrophage tumoricidal activity, J. immunol, 149:3290~3296, 1992.
86. Bredt DS, Snyder SH: Isolation of nitric oxide synthetase, a calmodulin requiring enzyme. Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A., 87:682~685, 1990.
87. McGrinnes, K., Chopman, G., Marks, R. and Penny, R. : A fluorescence NK assay using flow cytometry. J. Immunol., Meth., 86:7~15, 1986.
88. Schmid, D.S. : The human MHC-restricted cellular response to herpes simplex virus type 1 is mediated by CD4 helper(+), CD8 suppressor(+) T cells and restricted to the DR region of the MHC complex. J. Immunol., 140:3610~3616, 1988.
89. Soerskaar, D., Foerre, Oe., Albrechtsen, D. and Slavem, P. : Natural cytotoxicity in adult acute leukemia. Int. Arch. Allergy

- Apple. Immunol., 86 : 190~195, 1988.
90. Bach, J.F., Dardenne M. : Antigen recognition by T lymphocytes, cellular immunol. 3 : 1~10, 1972.
91. Hibbs, Jb., Jr., Taintor R. and Vavrin Z. : Macrophage cytotoxicity. Role for L-arginine deiminase and immunonitrogen oxydation of nitrite, science, 235 : 473~476, 1987.
92. Hibbs, J.B., Jr., Granger. D.L. : Cellular and cytokine networks in tissue immunity, pp.211~227, 1991.
93. Drapier J.C., and Hibbs, J.B. : Differentiation of murine macrophages to express nonspecific cytotoxicity for tumor cells results in L-arginine dependent inhibition of mitochondrial iron-sulfer enzymes in the macrophage effector cells. J. Immunol., 140 : 2689~2838, 1988.