대한한의학회지 : 제18권 제1호
K.O.M.S. Vol. 18. No. 1. 1997

四君子湯 및 四物湯 藥鍼이 免疫反應에 미치는 影響

李 秉 烈* · 安 秉 哲**

ABSTRACT

The effects of Sakunjatang and Samultang Aqua-acupuncture on immune response

Byung Ruyl Lee, Byoung Choul Ahn,
Department of Oriental Medicine Graduate School, Kyung Hee Uneversity, Seoul, Korea

In order to investigate the effects of Sakunjatang(四君子湯) and Samultang(四物湯) aqua-acupuncture on immune response, Sprague-Dawley male rats were used and randomly divided into four group. Normal group was normal control, Control group was injected i.v. with 2㎎/kg MTX on 9th and 11th day after sensitization with SRBC on 5th day, Sakunjatang aqua-acupunctured group(Sample A) was aqua-acupunctured daily for 18 days into the locus coresponding Bisu(B20) locus of the human body to Rat and MTX was administered 9th and 11th experimental day, Samultang aqua-acupunctured group(Sample B) was aqua-acupunctured daily for 18 days into the locus coresponding Bisu(B20) locus of the human body to Rat and MTX was administered 9th and 11th experimental day.

* 대전대학교 한의과대학 침구학 교실
** 경희대학교 한의학대학 침구학 교실

In the 9th day and the 11th day after aqua-acupuncture, MTX was injected to reduce immune function in the tail of rat. leukocyte count, lymphocyte ratio, lymphocyte count of spleen, lymphocyte count of bonemarrow, contact hypersensitivity to DNFB, morphologic change of thymus cell, and electropherogram of serum protein.

The result were summarized as follows :

1. Before MTX injection, leukocyte count had no significant difference in Sakunjatang aqua-acupunctured group and Samultang aqua-acupunctured group compared to control group and after MTX injection, leukocyte count had no significant difference Sakunjatang aqua-acupunctured group and Samultang aqua-acupunctured group.

2. Before MTX injection, lymphocyte ratio was decreased significantly Sakunjatang aqua-acupunctured group and Samultang aqua-acupunctured group compared to control group.

3. After MTX injection, lymphocyte ratio was increased significantly Sakunjatang aqua-acupunctured group, Samultang aqua-acupunctured group had no significant difference compared to control group.

4. The lymphocyte count of spleen was increased significantly Sakunjatang aqua-acupunctured group and Samultang aqua-acupunctured group compared to control group.

5. The lymphocyte count of bonemarrow was increased significantly Sakunjatang aqua-acupunctured group, Samultang aqua-acupunctured group had no significant difference compared to control group.

6. Contact hypersensitivity was no significant difference in Sakunjatang aqua-acupunctured group and Samultang aqua-acupunctured group compared to control group.

7. In the morphologic change of thymus cell, control group comapred to normal group had a indistinct boundary between cortex and medulla, and lymphocyte cell density of thymus was low, Sakunjatang aqua-acupunctured group had a distinct boundary between cortex and medulla, and lymphocyte cell density of thymus was high.

8. In the SDS-PAGE electrophorogram of serum protein, Sakunjatang aqua-acupunctured group and Samultang aqua-acupunctured group had a wide band of nearby 50,000 and 25,000 Dalton which meant IgG generate more activity.

I. 緖 論

韓醫學에서 疾病은 外邪의 侵襲, 正氣의 不足, 體內 陰陽의 平衡 失調로 發生하며 이러한 變化는 正氣와 邪氣의 抗爭 過程으로[1,69], 이는 最近 關心의 對象이 되고 있는 免疫學과 같은 觀點으로 解釋되고 있다.

免疫은 生體가 自己와 非自己를 識別하는 機能이며, 外部로부터 侵入하는 微生物, 同種의 組織이나 體內에 생긴 不必要한 産物 등을 非自己인 抗原으로 認識하고 特異하게 反應하여 抗體를 生産하므로써 이를 排除하고 그 個體의 恒常性을 維持하는 現象이다[15,16].

이에 관한 文獻的 資料로는 素問「上古天眞論」[22]에 "眞氣從之 精神內守 病安從來", 「刺法

論」[22]에 "正氣存內 邪不可干", "五疫之至 皆相染易 無問大小 病狀相似", 「評熱病論」[22]에 "邪之所湊 其氣必虛", 「四氣調神大論」[22]에 "不治已病 治未病"이라 하여 人體 內部의 正氣와 病因이 되는 邪氣와의 抗爭이 主要 關件임을 提示하고 있으며[1,10,18], 正氣를 도와 邪氣를 除去하는 이른바 "扶正祛邪"[3]의 原則이 提示됨으로써 韓醫學에서 免疫學的 機能을 强調하게 되었고, 具體的으로 18世紀 「免疫類方」[61]에 最初로 免疫의 用語가 使用되었다.

最近 藥鍼을 利用한 多樣한 硏究報告가 發表되고 있으며 그 中 免疫效果에 대한 實驗的 硏究로는 高 등[24,27,28,53]은 人蔘, 金 등[27,47]은 靈芝, 朴 등[36,37]은 黃耆, 黃 등[54]은 當歸, 金 등[32,34,53]은 鹿茸이 有效함을 報告하였으며, 이들 중 多數의 境遇에서 補氣劑 및 補血劑를 藥鍼液의 原料로 하고 있음에 着眼하여 本 實驗에서는 「和劑局方」[67]에 最初로 收錄된 以來 補氣劑와 補血劑의 代表的인 方劑로 使用되고 있는 四君子湯과 四物湯을 藥鍼液의 材料로 選定하였다.

이에 著者는 四君子湯 및 四物湯 藥鍼 刺戟이 免疫反應에 미치는 影響을 觀察하기 위하여 methotrexate로 免疫機能을 低下시킨 흰쥐에 扶土祛水濕, 理脾助運化[17,19,59]의 穴性을 가진 足太陽膀胱經의 脾兪(B20)를 選定하여 藥鍼을 施行한 후 血中 白血球數와 淋巴球比, 脾臟淋巴球, 骨髓淋巴球, 接觸性 皮膚過敏反應, 胸線 組織 變形 破壞 程度 및 血淸 蛋白質 電氣泳動像 등을 測定하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

Ⅱ. 實 驗

1. 動物 및 材料

1) 動 物

體重 200±5g의 Sprague Dawley系 수컷 흰쥐를 固形飼料(삼양유지<株>, 小型動物用)와 물을 充分히 供給하면서 實驗室 環境에 2週日間 適應시킨 後 健康이 良好한 것을 選擇하여 使用하였다.

2) 材 料

(1) 藥鍼器

1.0㎖ 藥鍼注入器(注射鍼 26gauge, 綠十字醫療供給社, 韓國)를 使用하였다.

(2) 藥鍼 原料

四君子湯과 四物湯의 藥材는 市中에서 購入하여 使用하였으며 그 內容은 다음과 같다.

① 四君子湯[21,62,63,65,66]

人蔘	Ginseng Radix	75g
白朮	Atractylis Rhizoma	75g
白茯苓	Hoelon	75g
甘草	Glycyrrhizae Radix	75g
	(Total amount	300g)

② 四物湯[21,62,63,65,66]

熟地黃	Rehmanniae Radix	75g
當歸	Angelicae giantis Radix	75g
川芎	Cnidi Rhizoma	75g
白芍藥	Paeoniae Radix	75g
	(Total amount	300g)

2. 實驗方法

1) 四君子湯과 四物湯 藥鍼液의 製造

깨끗하게 씻어서 말린 四君子湯과 四物湯의 材料 各各 300g씩을 잘게 썰어서 各各의 反應槽에 넣고 蒸溜水 1500ml를 부었다. 反應槽에서 蒸發한 水蒸氣가 冷却管을 通過하면서 液化되는데 그 液 96ml씩을 받아서 高壓蒸氣滅菌器에서 121℃, 1.5氣壓에서 滅菌하고 식힌 다음 플라스틱 容器에 담아 -20℃의 冷凍室에서 2時間 동안 冷凍시켰다. 그 뒤 解凍시켜서 살얼음이 낀 차가운 狀態에서 microfilter(0.2㎛ membrane filter)로 濾過한 뒤에 20㎖ vial에 넣어 包裝하여 保管하였다.

2) 經穴의 選定

取穴은 人體의 兩側 脾俞(B20)에 相應하는 部位를 體表上의 털을 除去한 후 骨度分寸法[17,19]에 依據하여 經穴探知器(D-J3型, 耳電鍼器, 上海醫療器)를 使用하여 取穴하였다.

3) 藥鍼 刺戟

藥鍼 刺戟은 一次 methotrexate(MTX ; $C_{20}H_{11}N_8O_5$, Sigma, U.S.A.)處理 前 9日間과 處理 後 9日間을 合한 18日 동안 兩側 脾俞의 皮下에 0.1㎖/point/day씩 刺戟하였다.

4) 抗原 刺戟

藥鍼 刺戟 第5日에 免疫系의 刺戟을 두드러지게 하기 위하여 흰쥐의 尾靜脈에 緬羊赤血球 0.2㎖를 注入하였다. 抗原으로 使用된 綿羊赤血球는 수원에 있는 서울大學校 牧場에서 기르는 綿羊頸動脈에서 注射器로 採血한 후 同量의 Alsever 氏 溶液(dextro 20.5g/ℓ, sodium citrate 8.0g/ℓ, citric acid 0.55g/ℓ, sodium chloride 4.2g/ℓ)을 섞은 후 4℃에 保管 移動하고 이를 遠心分離(遠心分離器 ; hettich zentrifugen D-1200, Tuttlingen, 독일)하여 赤血球를 分離한 다음 5% 赤血球溶液(赤血球 : Alsever 溶液 : PBS=1 : 1 : 18의 比率)을 만들어 1週日 以內의 것만 使用하였다.

5) 病態 誘發

흰쥐의 尾靜脈에 抗癌劑로 쓰는 MTX 2㎎/㎏/day을 藥鍼 刺戟 第9日에 一次 注入하고, 第11日에 二次 注入하여 免疫能力을 低下시켰다.

6) 實驗群의 分類 및 處置

흰쥐 6마리를 1群으로 하여, 아무 처치도 하지 않은 正常群(Normal group), 藥鍼 刺戟을 하지 않고 實驗 始作 第5日에 緬羊赤血球를 注入하고 第9日과 第11日에 MTX를 注入한 對照群(Control group), 四君子湯藥鍼으로 刺戟을 始作한 후 第5日에 緬羊赤血球를 注入하고 第9日과 第11日에 MTX를 注入한 四君子湯藥鍼群(Sample A), 四物湯藥鍼으로 刺戟을 始作한 후 第5日에 緬羊赤血球를 注入하고 第9日과 第11日 MTX를 注入한 四物湯藥鍼群(Sample B)으로 區分하여 實驗하였다.

7) 採 血

(1) 末梢 血液 採取

採血은 藥鍼刺戟을 始作하고 一次 MTX 注入하기 전날과 二次 MTX 注入 2週後에 Nerenberg and Zedler71)가 紹介한 方法에 따라 實驗室에서 自體 製作한 採血 裝置를 使用하였다. 保溫器(Heating box ; 植出製作所, 日本)에서 末梢 血管을 擴張시킨 후 꼬리를 切斷하고 電動附缸器(Medi-pump, U.S.A.)를 使用하여 眞空 狀態에서 發生하는 陰壓을 利用하는 眞空補助採血裝置(vacuum-assisted method)로 2.5㎖를 採血하여 白血球와 좀 더 細分化된 鑑別 計數(differential counting)로 淋巴球 比率을 測定하였다.

(2) 心臟 血液 採取

二次 MTX를 注入한 2週 후에 chloroform으로 麻醉하고 心臟 穿刺하여 2㎖를 採血하고 室溫에서 1時間 放置後 20℃에서 30分間 2,000r.p.m.으로 遠心分離하여 血淸을 얻었으며, 얻은 血淸은 SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate-Poly Acrylamide Gel Electrophoresis)[73]를 活用하여 血淸蛋白質中의 Ig G를 觀察하였다.

8) 測 定

(1) 白血球數

흰쥐의 尾靜脈에서 一次 MTX 注入하기 전날과 二次 MTX 注入 2週 후 採血한 血液을 各各 血球計數器(Hema-5, Texas Int. Lab. Co., U.S.A.)를 利用하여 白血球數를 測定 하였다.

Wright 染色法[9]으로 塗抹染色하여 光學顯微鏡(Olympus BH-2, Japan)을 利用하여 觀察하였다.

(2) 淋巴球比

흰쥐의 尾靜脈에서 一次 MTX 注入하기 전날과 二次 MTX 注入 2週 후 採血한 血液으로 各各 血球計數用 slide 위에서 血液塗抹 標本을 만들어서 trypan blue(Sigma, U.S.A.)로 染色한 후 나타나는 색깔을 보고 個數를 헤아려 單核球(monocyte), 好中球(neutrophil), 好酸球(eosinophil), 好鹽球(basophil) 및 淋巴球(lymphocyte) 들의 個數를 手動 計數器를 利用하여 測定하였다.

(3) 脾臟 淋巴球數

心臟 採血 후 H. B. Waynforth 등[71]의 方法에 準하여 無菌 狀態에서 흰쥐의 脾臟을 摘出하여 Phosphate buffered saline(PBS ; sodium chloride 8g, pottassium chloride 0.2g, disodium hydrogen phosphate 1.15g, pottassium dihy drogen phospate 0.2g, calcium chloride 0.0005g, magnesium chloride 0.0005g)이 들어있는 petri dish에서 작은 解剖가위로 3~4等分 하고 滅菌된 유리 막대로 조심스럽게 문지른 후 stain철망(mesh No. 100 ; 청계상공사, 韓國)에 걸러 脾臟細胞를 浮遊시켰다. 이 浮遊液에 Tris-NH4Cl을 使用하여 赤血球를 除去하고 10℃에서 20分間 2,000r.p.m.으로 遠心分離하여 上層液을 除去하고 다시 PBS 5ml를 가하여 混合한 후 2回 遠心洗滌하여 깨끗한 淋巴球를 얻었다. 이 淋巴球를 血球計數用 slide 위에서 trypan blue로 染色하여 淋巴球數를 手動으로 測定하였다.

(4) 脛骨內 骨髓 淋巴球數

心臟 採血 후 H. B. Waynforth 등[71]의 方法에 準하여 No.23의 작은 칼날을 使用하여 발목에서 엉덩이를 향하여 皮膚를 切開하고 脛骨을 分離한 후 21gauge needle을 使用하여 脛骨의 medial condyloid surface를 통해 작은 구멍을 만들고 骨가위를 使用하여 반대편 끝단을 잘라 내었다. 21gauge needle을 PBS를 채운 5㎖ 注射器에 連結하여 骨髓腔으로 注射하여 骨髓가 밖으로 分出되도록 하였다.

骨髓細胞가 섞여 있는 PBS를 10℃에서 20分間 2,000r.p.m.으로 遠心分離하여 上層液을 除去하고 다시 PBS 5ml를 가하여 混合한 후 2回 遠心洗滌하여 깨끗한 淋巴球를 얻었다. 이 淋巴球를 血球計數用 slide 위에서 trypan blue로 染色하여 淋巴球數를 手動으로 測定하였다.

(5) 接觸性 皮膚 過敏反應

接觸性 皮膚 過敏反應은 하[52]가 使用한 方法에 準하여 2, 4-dinitrofluorobenzene(DNFB)을 感作原으로 하여 實驗하였다.

acetone 對 olive油의 容積比(v/v)가 4 : 1인 溶液에 0.5% DNFB를 溶解시킨 다음 20㎕를 取하여 剃毛한 흰쥐의 腹部 皮膚에 藥鍼 刺戟 第16日(一次) 및 第18日(二次)에 各各 塗抹하고, 二次 腹部 塗抹한 5日 후에 0.2% DNFB溶液 10㎕를 左側 耳廓 前後 兩面에 塗抹하여 接觸性 皮膚 過敏反應을 惹起시킨 후 24時間이 經過하고 나서 左右 耳廓의 浮腫 程度를 dial thickness gague(G, Ozaki MFG. Co., LTD., Japan)로 各各 0.1㎜까지 測定하여 左右의 差異를 計算하였다.

(6) 胸腺 組織 淋巴細胞 形態 變化

心臟 採血 후 H. B. Waynforth 등[71]의 方法에 準하여 手術 道具들을 利用하여 胸骨을 따라 鎖骨과 第1, 2, 3肋骨을 切開하고 胸廓을 연 다음 胸腺을 分離한 후 -20℃에서 冷凍시켰다.

冷凍된 標本을 冷凍切片器(Frigocut 2800, Leica Instruments GmbH, Germany)에서 組織切片用 媒質(embedding medium for frozen ; Miles, U.S.A.)에다 묻고 함께 얼린 다음 14㎛의 切片을 만들어서 slide glass 위에서 H-E 染色法(H-E Staining ; Hemaetoxylin(E. MERCK, Germany) - Eosin(E. MERCK, Germany) staining)[74]으로 染色해서 光學顯微鏡으로 觀察하였다.

(7) 血淸 蛋白質 電氣泳動像(SDS-PAGE ; Sodium Dolecyl Sulfate - Poly Acrylamide Gel Electrophoresis)

Ig G를 分離 檢査하기 위하여 Jone E. Coligan 등[72]의 方法에 準하여 心臟 穿刺하여 採取한 2.0㎖의 血液을 室溫에서 1時間 放置 후 20℃에서 30分間 2,000r.p.m.으로 遠心分離하여 血淸을 얻어 6時

間 透析하여 無機質을 除去한 후 濃縮하고 같은 量의 treatment solution(0.125 M Tris-Cl pH6.8, 4% SDS, 20% glycerol, 20% 2-mercaptoethanol, 10% Bromphenol blue)과 섞은 뒤 100℃에서 90秒 동안 끓여 15㎕씩 同一하게 負荷하였다.

9) 寫眞 撮影 裝置

光學 三眼 顯微鏡에 adapter를 끼워 直接 撮影할 수 있도록 만든 寫眞器(Olympus SC-35, Japan)와 實驗動物을 實像에서 撮影하기 위하여 寫眞 撮影臺(진양 산업, 韓國)를 썼다.

10) 統計 處理

각 群의 統計處理는 SAS(statistical analysis system)를 利用하였으며 分散分析法11)에 의한 分散比(F-value)를 통하여 各群 사이의 平均値 差異에 대한 有意性 檢定(p값 決定)後, α=0.05 水準에서 Duncan 檢定法에 의하여 個別 比較하였다.

Ⅲ. 實驗成績

1. 血中 白血球數에 미치는 影響

1) MTX 注入 前 白血球數에 미치는 影響

正常群은 6.083±0.446(103/10㎕)이었고 對照群은 12.900±0.769(103/10㎕)이었으며 四君子湯藥鍼群은 16.450±2.803(103/10㎕), 四物湯藥鍼群은 16.800±0.391(103/10㎕)로 나타났다.

Duncan 多重檢定法에 의한 個別 比較에서 正常群에 比하여 對照群, 四君子湯藥鍼群 및 四物湯藥鍼群은 각각 有意性있는 增加를 나타내었으나 對照群과 각 實驗群間의 比較에서는 有意性이 없었다.(Table Ⅰ. Fig. 1.)

2) MTX 注入 後 白血球數에 미치는 影響

正常群은 6.317±0.531(10^3/10㎕)이었고 對照群은 5.483±0.774(10^3/10㎕)이었으며 四君子湯藥鍼群은 8.350±1.366(10^3/10㎕), 四物湯藥鍼群은 8.350±0.882(10^3/10㎕)로 나타났다.

本 實驗의 有意性을 檢定하기 위한 一元分散分析을 施行한 結果 p>0.05로 나타나 實驗 白體의 有意性이 認定되지 않았다.(Table Ⅱ. Fig. 2.)

2. 血中 淋巴球比에 미치는 影響

1) MTX 注入 前 淋巴球比에 미치는 影響

正常群은 45.667±0.615(%)이었고 對照群은 59.000±1.751(%)이었으며 四君子湯藥鍼群은 54.500±3.394(%), 四物湯藥鍼群은 50.167±0.307(%)로 나타났다.

Duncan 多重檢定法에 의한 個別 比較에서 四君子湯藥鍼群과 四物湯藥鍼群 모두 對照群에 比해서 有意性있게 減少하는 것을 볼 수 있었다.(Table Ⅲ. Fig. 3.)

2) MTX 注入 後 淋巴球比에 미치는 影響

正常群은 46.833±2.040(%)이었고 對照群은 42.667±2.472(%)이었으며 四君子湯藥鍼群은 52.500±2.604(%), 四物湯藥鍼群은 46.667±2.155(%)로 나타났다.

Duncan 多重檢定法에 의한 個別 比較에서 四君子湯藥鍼群은 對照群에 比해서 有意性있는 增加를 나타내었으나, 四物湯藥鍼群은 有意性이 없었다.(Table Ⅳ. Fig. 4.)

3. 脾臟 淋巴球數에 미치는 影響

正常群은 24.000±2.000(5×10^6/ea)이었고 對照群은 107.833±25.115(5×10^6/ea)이었으며 四君子湯藥鍼群은 242.833±39.024(5×10^6/ea), 四物湯藥鍼群은 372.667±29.146(5×10^6個/ea)으로 나타났다.

Duncan 多重檢定法에 의한 個別 比較에서 對照群이 比하여 四君子湯藥鍼群과 四物湯藥鍼群 모두에서 有意性있는 增加를 나타내었다.(Table Ⅴ. Fig. 5.)

4. 骨髓 淋巴球數에 미치는 影響

正常群은 37.500±3.964(125×10⁴/ea)이었고 對照群은 63.500±2.790(125×10⁴/ea)이었으며 四君子湯藥鍼群은 85.333±9.952(125×10⁴/ea), 四物湯藥鍼群은 63.333±9.950(125×10⁴/ea)으로 나타났다.

Duncan 多重檢定法에 의한 個別 比較에서 對照群에 比하여 四君子湯藥鍼群은 有意性있는 增加를 나타내었으나, 四物湯藥鍼群은 有意性이 없었다.(Table Ⅵ. Fig. 6.)

5. 接觸性 皮膚 過敏反應에 미치는 影響

正常群은 0.232±0.026(㎜)이었고 對照群은 0.313±0.035(㎜)이었으며 四君子湯藥鍼群은 0.248±0.038(㎜), 四物湯藥鍼群은 0.202±0.032(㎜)로 나타났다.

本 實驗의 有意性을 檢定하기 위한 一元分散分析을 施行한 結果 $p>0.05$로 나타나 實驗 自體의 有意性이 認定되지 않았다.(Table Ⅶ., Fig. 7.)

Table Ⅰ. Effect of Sakunjatang aqua-acupunctured group and Samultang aqua-acupunctured group on the W.B.C. in rats induced by intravenous sensitivation with SRBC.

Group	N.of animals	N.of W.B.C ($10^3/10\mu\ell$)	Duncan Grouping
Normal	6	6.083±0.446[1)]	A[2)]
Control	6	12.900±0.469	B
Sample A	6	16.450±2.803	B
Sample B	6	16.800±0.391	B

F－value=7.08*

1) Mean±standard error of 6 rats.
2) The same letter are not significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan's multiple range test.

Normal : untreated group.
Control : The group of SRBC antigen is immunized and MTX is administrated.
Sample A : The group of Sakunjatang aqua-acupuncture solution is injected and SRBC antigen is immunized and MTX is administrated.
Sample B : The group of Samultang aqua-acupuncture solution is injected and SRBC antigen is immunized and MTX is administrated.

* : Statistically significant value by the analysis of variance procedure.(* : $P<0.01$)

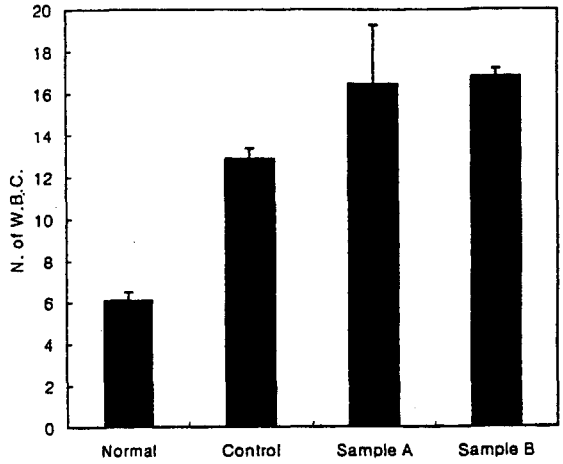

Fig. 1. Effect of Sakunjatang aqua-acupunctured group and Samultang aqua-acupunctured group on the W.B.C. in rats induced by intravenous sensitivation with SRBC.

Table Ⅱ. Effect of Sakunjatang aqua-acupunctured group and Samultang aqua-acupunctured group on the W.B.C. in rats were injected i.v. with 2㎎/㎏ of MTX on 9th, 11th days after sensitivation with SRBC.

Group	N.of animals	N.of W.B.C ($10^3/10\mu\ell$)	Duncan Grouping
Normal	6	6.317±0.531[1)]	A[2)]
Control	6	5.483±0.774	B
Sample A	6	8.350±1.366	B
Sample B	6	8.350±0.882	B

F－value=2.21*

1) Mean±standard error of 6 rats.
2) The same letter are not significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan's multiple range test.

Normal : untreated group.
Control : The group of SRBC antigen is immunized and MTX is administrated.
Sample A : The group of Sakunjatang aqua-acupuncture solution is injected and SRBC antigen is immunized and MTX is administrated.

Sample B : The group of Samultang aqua-acupuncture solution is injected and SRBC antigen is immunized and MTX is administrated.

* : Statistically significant value by the analysis of variance procedure.(* : P<0.01)

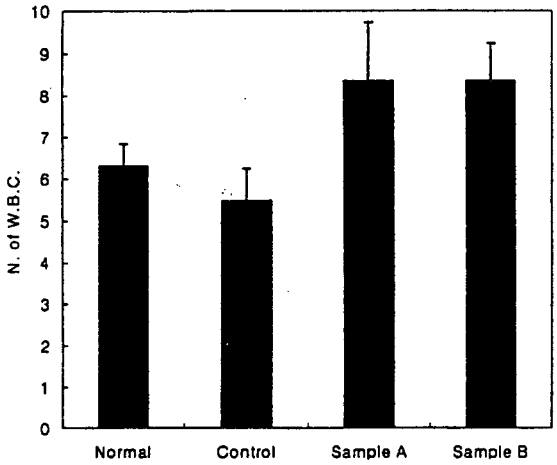

Fig. 2. Effect of Sakunjatang aqua-acupunctured group and Samultang aqua-acupunctured group on the W.B.C. in rats were injected i.v. with 2㎎/㎏ of MTX on 9th, 11th days after sensitivation with SRBC.

Table Ⅲ. Effect of Sakunjatang aqua-acupunctured group and Samultang aqua-acupunctured group on the lymphocyte ratio in rats induced by intravenous sensitivation with SRBC.

Group	N.of animals	N.of W.B.C ($10^3/10\mu\ell$)	Duncan Grouping
Normal	6	45.667±0.615[1]	A[2]
Control	6	59.000±1.751	B
Sample A	6	54.500±3.394	C
Sample B	6	50.167±0.307	AC

F-value=8.03*

1) Mean±standard error of 6 rats.

2) The same letter are not significantly different at the α=0.05 level by Duncan's multiple range test.

Normal : untreated group.

Control : The group of SRBC antigen is immunized and MTX is administrated.

Sample A : The group of Sakunjatang aqua-acupuncture solution is injected and SRBC antigen is immunized and MTX is administrated.

Sample B : The group of Samultang aqua-acupuncture solution is injected and SRBC antigen is immunized and MTX is administrated.

* : Statistically significant value by the analysis of variance procedure.(* : P<0.01)

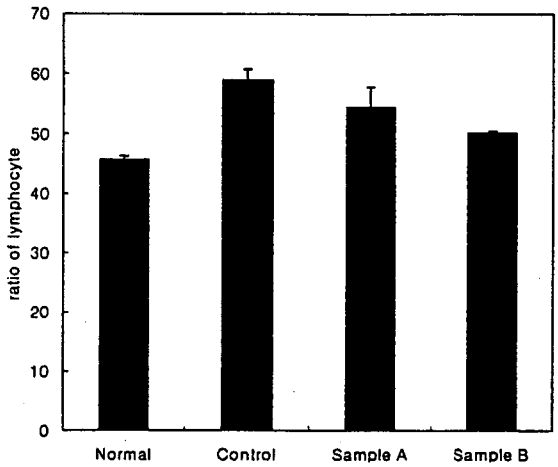

Fig. 3. Effect of Sakunjatang aqua-acupunctured group and Samultang aqua-acupunctured group on the lymphocyte ratio in rats induced by intravenous sensitivation with SRBC.

Table Ⅳ. Effect of Sakunjatang aqua-acupunctured group and Samultang aqua-acupunctured group on the lymphocyte ratio in rats were injected i.v. with 2㎎/㎏ of MTX on 9th, 11th days after sensitivation with SRBC.

Group	N.of animals	N.of W.B.C ($10^3/10\mu\ell$)	Duncan Grouping
Normal	6	46.883±2.040[1]	AB[2]
Control	6	42.667±2.472	A
Sample A	6	52.500±2.604	B
Sample B	6	46.667±2.155	AB

F-value=2.80*

1) Mean±standard error of 6 rats.

2) The same letter are not significantly different at the α=0.05 level by Duncan's multiple range test.

Normal : untreated group.

Control : The group of SRBC antigen is immunized

and MTX is administrated.

Sample A : The group of Sakunjatang aqua-acupuncture solution is injected and SRBC antigen is immunized and MTX is administrated.

Sample B : The group of Samultang aqua-acupuncture solution is injected and SRBC antigen is immunized and MTX is administrated.

* : Statistically significant value by the analysis of variance procedure.(* : P<0.05)

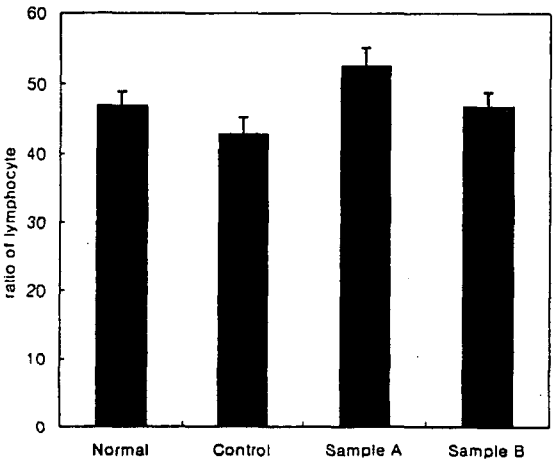

Fig. 4. Effect of Sakunjatang aqua-acupunctured group and Samultang aqua-acupunctured group on the lymphocyte ratio in rats were injected i.v. with 2㎎/㎏ of MTX on 9th, 11th days after sensitivation with SRBC.

Table V. Effect of Sakunjatang aqua-acupunctured group and Samultang aqua-acupunctured group on the lymphocyte in spleen of rats. Rats were injected i.v. with 2㎎/㎏ of MTX on 9th, 11th days after sensitivation with SRBC.

Group	N.of animals	N.of W.B.C ($10^3/10\mu\ell$)	Duncan Grouping
Normal	6	24.000±2.000[1)]	A[2)]
Control	6	107.833±25.115	B
Sample A	6	242.833±39.024	C
Sample B	6	372.667±29.146	D

F-value=21.14*

1) Mean±standard error of 6 rats.

2) The same letter are not significantly different at the α=0.05 level by Duncan's multiple range test.

Normal : untreated group.

Control : The group of SRBC antigen is immunized and MTX is administrated.

Sample A : The group of Sakunjatang aqua-acupuncture solution is injected and SRBC antigen is immunized and MTX is administrated.

Sample B : The group of Samultang aqua-acupuncture solution is injected and SRBC antigen is immunized and MTX is administrated.

* : Statistically significant value by the analysis of variance procedure.(* : P<0.01)

** : 5×106/each of Spleen

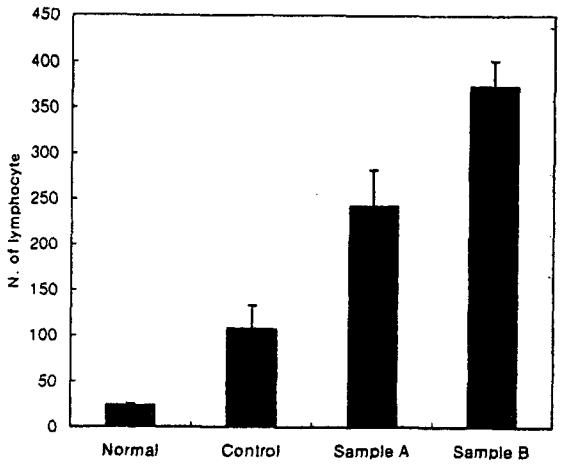

Fig. 5. Effect of Sakunjatang aqua-acupunctured group and Samultang aqua-acupunctured group on the lymphocyte in spleen of rats. Rats were injected i.v. with 2㎎/㎏ of MTX on 9th, 11th days after sensitivation with SRBC.

Table VI. Effect of Sakunjatang aqua-acupunctured group and Samultang aqua-acupunctured group on the lymphocyte in bonemarrow of rats. Rats were injected i.v. with 2㎎/㎏ of MTX on 9th, 11th after sensitivation with SRBC.

Group	N.of animals	N.of W.B.C ($10^3/10\mu\ell$)	Duncan Grouping
Normal	6	37.500±3.964[1)]	A[2)]
Control	6	63.500±2.790	B
Sample A	6	85.333±9.952	C
Sample B	6	63.333±9.950	B

F-value=6.47*

1) Mean±standard error of 6 rats.
2) The same letter are not significantly different at the α=0.05 level by Duncan's multiple range test.
Normal : untreated group.
Control : The group of SRBC antigen is immunized and MTX is administrated.
Sample A : The group of Sakunjatang aqua-acupuncture solution is injected and SRBC antigen is immunized and MTX is administrated.
Sample B : The group of Samultang aqua-acupuncture solution is injected and SRBC antigen is immunized and MTX is administrated.
* : Statistically significant value by the analysis of variance procedure.(* : P<0.01)
** : 125×10^4/each of tibia

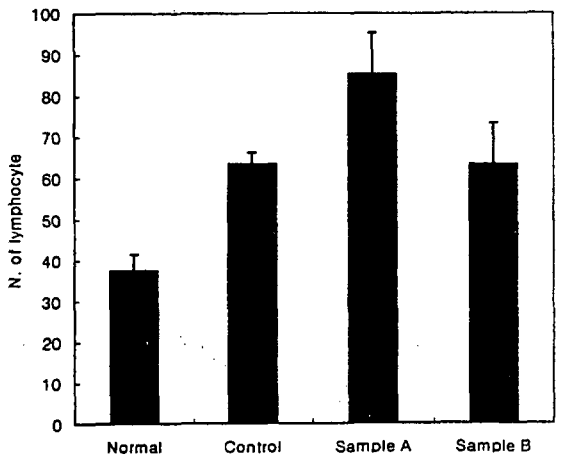

Fig. 6. Effect of Sakunjatang aqua-acupunctured group and Samultang aqua-acupunctured group on the lymphocyte in bonemarrow of rats. Rats were injected i.v. with 2㎎/㎏ of MTX on 9th, 11th after sensitivation with SRBC.

Table Ⅶ. Effect of Sakunjatang aqua-acupunctured group and Samultang aqua-acupunctured group on the contact hypersensitivity to DNFB in rats. Rats were injected i.v. with 2㎎/㎏ of MTX on 9th, 11th days after sensitivation with SRBC.

Group	N.of animals	N.of W.B.C ($10^3/10\mu\ell$)	Duncan Grouping
Normal	6	0.232±0.026[1)]	A[2)]
Control	6	0.313±0.035	A
Sample A	6	0.248±0.038	A
Sample B	6	0.202±0.032	A

F-value=1.46*

1) Mean±standard error of 6 rats.
2) The same letter are not significantly different at the α=0.05 level by Duncan's multiple range test.
Normal : untreated group.
Control : The group of SRBC antigen is immunized and MTX is administrated.
Sample A : The group of Sakunjatang aqua-acupuncture solution is injected and SRBC antigen is immunized and MTX is administrated.
Sample B : The group of Samultang aqua-acupuncture solution is injected and SRBC antigen is immunized and MTX is administrated.
* : Statistically significant value by the analysis of variance procedure.(* : P<0.01)

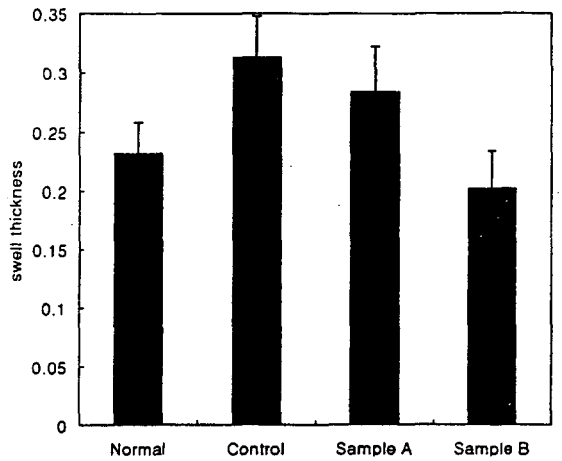

Fig. 7. Effect of Sakunjatang aqua-acupunctured

group and Samultang aqua-acupunctured group on the contact hypersensitivity to DNFB in rats. Rats were injected i.v. with 2㎎/㎏ of MTX on 9th, 11th days after sensitivation with SRBC.

6. 胸腺 組織 淋巴 細胞 形態 變化에 미치는 影響

胸腺組織의 淋巴球 密集度를 確認하기 위하여 組織切片을 染色하여 撮影한 結果는 다음과 같다.(Fig. 8., 9., 10., 11.)

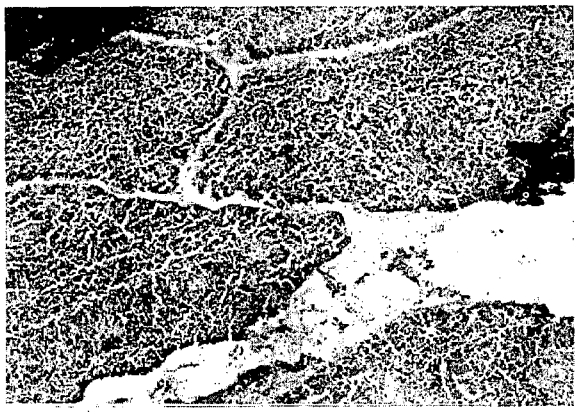

Fig. 8. The thymus cell composition of Normal group(×40)

Fig. 9. The thymus cell composition of Control group(×40)

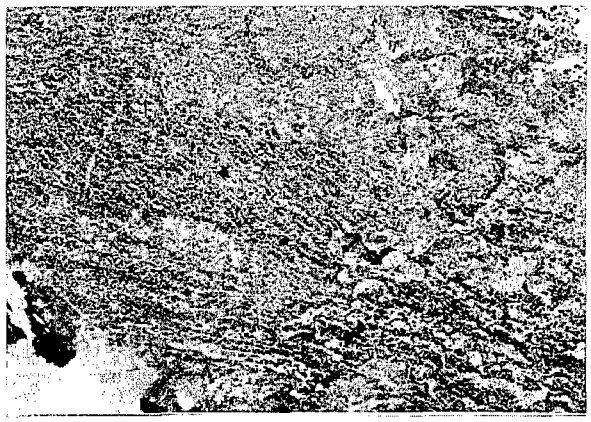

Fig. 10. The thymus cell composition of Sample A (四君子湯藥鍼群, ×40)

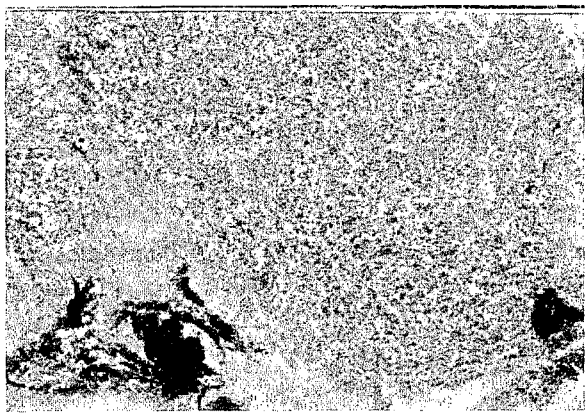

Fig. 11. The thymus cell composition of Sample B (四物湯藥鍼群, ×40)

7. 血淸 蛋白質 電氣 泳動像 (SDS-PAGE)에 미치는 影響

MTX 注入 2週 後 心臟 血液에서 血淸을 分離하여 血淸 蛋白質의 組成을 觀察하기 위하여 電氣 泳動(SDS-PAGE)을 施行하였다. protein size marker로는 Phosphorylase B 97,400Dalton, Bovine serum Albumin 66,200Dalton, Glutamate Dehydrogenase 55,000Dalton, Ovalbumin 42,700Dalton, Aldolase 40,000Dalton, Carbonic Anhydrase 31,000 Dalton, Soybean Trypsin Inhibitor 21,500Dalton, Lysozyme 14,400Dalton(Mid Range Protein Mole

cular Weight Marker ; promega, U.S.A.)을 使用하였다.(Fig. 12.)

電氣 泳動은 30% Acrylamide gel에서 Tall Mighty Small(Hoefer, U.S.A.)을 使用하여 15㎃에서 6時間 동안 展開시켜 2時間 以上 染色(0.025% Coomassie Blue R-250, 40% Methanol, 7% Acetic acid)하고 2回 脫色(40% methanol, 7% acetic acid에서 2時間 후 7% acetic acid, 5% methanol에서 2時間)하여 血淸蛋白質의 構成을 觀察하였다.

SDS-PAGE의 展開像에서 Ig G는 50kD의 Heavy chain 2個와 25kD의 Light chain 2個로 構成되어 있는데, 이를 β-mercaptoethanol로 處理하면 Heavy chain과 Light chain의 斷片이 分離된다. 電氣 泳動像에 分子量 50,000 Dalton과 25,000 Dalton의 位置에 band(띠)가 形成된 것을 確認함으로써 血淸內에 Ig G가 存在함을 視覺的으로 確認할 수 있다. 本 實驗의 SDS-PAGE의 展開像에서 Heavy chain과 Light chain에 該當하는 50kD과 25kD 附近에 생긴 band의 面積을 觀察하여 撮影한 結果는 다음과 같다.(Fig. 13.)

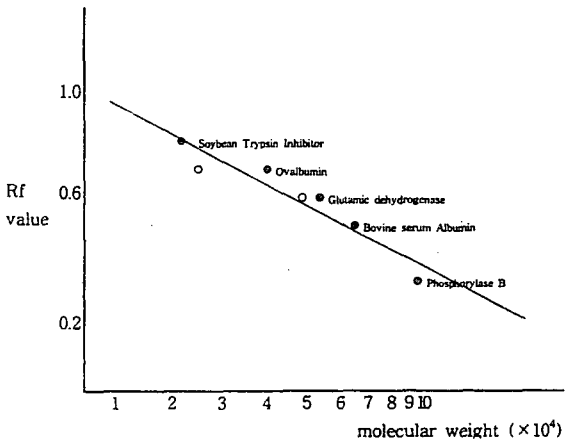

Fig. 12. Molecular weight on SDS-PAGE.
● : size marker,
○ : fragment of Ig G

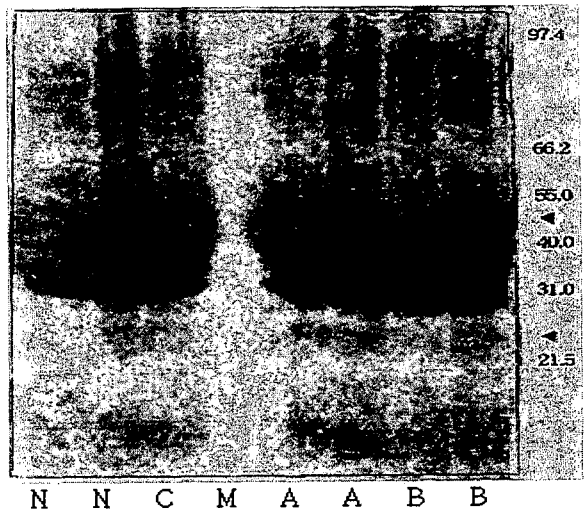

Fig. 13. 血淸 蛋白質 電氣 泳動像(SDS-PAGE)
N : Normal group C : Control group
M : Maker A : Sample A(四君子湯藥鍼群)
B : Sample B(四物湯藥鍼群)

Ⅳ. 考 察

免疫이란 特定한 感染病에 抵抗하기 위한 生體의 防禦能力을 意味하는데 最近에는 生體의 物質的 性質의 統一性에 대한 混亂에 對處하는 機能으로 解析되고 있다.[7,8] 生體 統一性은 微生物的인 原因, 서로 다른 血液型의 血液 輸血, 抗原性이 서로 다른 抗原을 갖는 同種組織의 移植, 體內에 突然變異 細胞 出現, 植物性 또는 動物性의 異種蛋白이나 多糖類의 侵入, 自己의 體成分이 變成되거나 外來의 합텐分子와 結合에 의한 自家抗原(autoantigen)의 發生 등에 의하여 惹起된다.[7]

免疫反應을 나타내는 것은 淋巴 細網 內皮系인데, 淋巴 細網 細胞系의 作用은 病源體와의 싸움에만 머물지 않고 生體의 統一性(integrity)에 조금이라도 混亂이 있는가의 與否를 끊임 없이 監視하고 있다.7) 이와같은 作用을 Burnet는 免疫監視(immunological surveillance)라고 命名하였으며 生體內에서 自己(self)와 非自己(nonself)을 區別하여 外部에서 들어온 異物質을 認識하

여 除去해 버리는데 도움이 되고 있다.7) 즉 生體內에서 病源素에 대한 防禦 作用을 하며 生體의 恒常性을 維持하고 抵抗力을 增强시켜 주는 任務를 擔當하는 것이 免疫係이다.[16]

韓醫學에서 疾病의 發生은 素問「刺法論」[22]에 "正氣存內 邪不可干", 「評熱病論」[22]에 "邪之所湊其氣必虛"라 한 바와 같이 正氣는 人體의 正常的인 免疫機能을 代表하며 正氣가 虛하면 免疫機能도 低下된다. 즉 免疫反應은 邪氣의 侵害에 대한 正氣의 相互鬪爭으로 認識된다.[6]

正氣는 生命活動의 原動力이며 生體의 調節, 防禦 및 適應能力을 말하고 邪氣란 病邪로 人體의 正常的인 生命活動을 沮害하고 人體와 外部環境 사이의 相對的 平衡狀態를 破壞하는 各種 有害因子로 六淫外邪나 體內의 病理的 産物인 瘀血, 痰飮 등을 指稱한다.[3,6] 따라서 外部에서 들어오는 病因에 대한 衛氣의 作用으로 抵抗力이 形成되는데 이는 免疫防禦機能과 相似하며 衛氣와 病邪間의 相爭은 免疫現狀으로 볼 수 있다.[3,4]

免疫機能과 關聯한 報告로서 高 등[25,26,29,30,35,51]은 韓藥의 經口投與를 通한 方法을 利用하였으며 康 등[33,49,50,53,54]은 藥鍼療法을 活用하였고 宋 등[39,40,43,46,48]은 溫鍼, 艾灸 등 其他의 方法을 利用하여 免疫反應에 效果가 있음을 硏究報告하여 韓醫學의 多樣한 治療方法이 免疫機能에 效果가 있음을 立證하였으며, 그 中 많은 境遇에서 補血劑 및 補氣劑를 實驗의 材料로 選擇하고 있음을 알 수 있었다. 이와 같이 扶正祛邪의 原則 中 扶正의 方法이 免疫機能을 强化시켜 免疫能力을 向上시킬 수 있을 것이라는 點에 着眼하여 本實驗에서는 「和劑局方」[67]에 最初로 提示된 以來 補氣劑와 補血劑의 代表方劑[12,14,55,56,58]로 使用되고 있는 四君子湯과 四物湯을 藥鍼液의 原料로 選擇하여 實驗을 施行하였다.

이들 處方의 藥材 構成을 살펴보면 四君子湯은 人蔘, 白朮, 白茯苓 및 甘草로 構成되는데, 人蔘은 扶脾養胃 補中益氣하고, 白朮은 健脾燥濕扶助運化하며, 白茯苓은 健脾滲濕하고, 甘草는 益氣補中和胃하여 合用하면 益氣健脾養胃하는 效能이 있어 治營衛氣虛, 臟腑怯弱하여 氣虛諸證을 治療하는 補氣의 方劑이며[5,57,60,64,68], 四物湯은 當歸, 川芎, 白芍藥 및 熟地黃으로 構成되는데, 熟地黃은 補血하고, 當歸는 養血和血하며, 白芍藥은 和營理血하고, 川芎은 行氣活血하여 合用하면 調益營衛, 滋養氣血하여 一切 血虛 및 血不和로 發生하는 諸證을 治하는 補血調血의 主方이 되고 있다.[5,57,60,64,68]

四君子湯과 四物湯에 대한 臨床 및 實驗的 硏究가 多樣하게 報告되어 있으며[23,41,44,45], 특히 免疫效果에 대한 實驗的 報告로 金[31]은 四君子湯, 四物湯 및 八物湯이 Prednisolone으로 誘發된 생쥐의 免疫反應低下를 回復시키는 效能이 있다고 하였으며, 裴 등[38]은 四君子湯과 四物湯 Extracte가 Rat의 成長에 有效한 影響을 미친다고 하였으며, 李 등[42]은 四君子湯이 생쥐의 體液性·細胞性 免疫反應이 增加되고 免疫學的 監視에 관여하는 NK細胞들의 活性을 顯著히 增加시킨다고 하였다.

免疫反應에 藥鍼을 利用한 實驗的 硏究로는 高 등[24,27,28,36,37]은 MTX, 林 등[47]은 寒冷刺戟, 黃 등[54]은 放射線 被曝, 車 등[49]은 3-Methylcholanthrene으로 免疫機能을 低下시킨 생쥐를 對象으로 有效한 免疫 增强 效果가 있음을 報告하였다.

生體의 免疫反應은 免疫抑制劑인 MTX를 投與하면 低下되는데 이는 MTX가 folic acid와 構造上 類似하여 folic acid의 拮抗物質로 作用하므로 folic acid에서 folinic acid로의 轉換에 關與하는 folic acid reductase를 沮害하여 folic acid로 還元되는 것을 抑制함으로써 DNA合成을 妨害하기 때문이며, 生體에 있어서 folic acid 缺乏을 초래하며 白血球 減少現象이 나타난다.[13,15,20]

이에 著者는 四君子湯과 四物湯 藥鍼이 免疫反應에 미치는 影響을 살펴보고자 흰쥐의 兩側脾俞(B20)에 藥鍼刺戟하면서 藥鍼 始作 第9日과 第11日에 MTX를 尾靜脈에 注入하고 免疫機能이 低下된 흰쥐를 對象으로 血中 白血球數와 淋

巴球比, 脾臟淋巴球, 骨髓淋巴球, 接觸性 皮膚 過敏反應, 胸腺 組織 淋巴細胞 變形 程度 및 血淸 蛋白質 電氣泳動像(SDS-PAGE) 등을 測定하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

藥鍼刺戟 第5日에 緬羊赤血球를 注入하고 MTX를 注入하기 전날에 尾靜脈에서 採取한 血液中의 白血球數는 正常群이 6.083±0.446(10^3/10 $\mu\ell$)이었고 對照群은 12.900±0.469(10^3/10$\mu\ell$)이었으며 四君子湯藥鍼群은 16.450±2.803(10^3/10$\mu\ell$), 四物湯藥鍼群이 16.800±0.391(10^3/10$\mu\ell$)로 나타났다. 이는 正常群에 比하여 對照群, 四君子湯藥鍼群 및 四物湯藥鍼群에서 各各 有意性있는 差異를 나타냈으나($p<0.01$), 對照群과 實驗群 사이의 有意性은 찾아볼 수 없었다. 이 結果는 緬羊赤血球의 注入으로 對照群 및 實驗群에서 白血球數의 增加가 있었던 것으로 把握되며, 對照群과 四君子湯藥鍼群 및 四物湯藥鍼群의 比較에서 有意性이 나타나지는 않았다.

MTX 注入 2週 後 尾靜脈에서 採取한 血液中의 白血球數는 正常群이 6.317±0.531(10^3/10$\mu\ell$)이었고 對照群은 5.483±0.774(10^3/10$\mu\ell$)이었으며 四君子湯藥鍼群은 8.350±1.366(10^3/10$\mu\ell$), 四物湯藥鍼群은 8.350±0.882(10^3/10$\mu\ell$)로 나타났다. 이는 本 實驗의 有意性을 檢定하기 위한 一元分散分析을 施行한 結果 $p>0.05$로 나타나 實驗 白體의 有意性이 認定되지 않았다.

藥鍼刺戟 第5日에 緬羊赤血球를 注入하고 MTX를 注入하기 전날에 尾靜脈에서 採取한 血液中 淋巴球 比率은 正常群이 45.667±0.615(%)이었고 對照群은 59.000±1.751(%)이었으며 四君子湯藥鍼群은 54.500±3.394(%), 四物湯藥鍼群은 50.167±0.307(%)로 나타났다. 이는 四君子湯藥鍼群과 四物湯藥鍼群 모두에서 對照群에 比하여 有意性있게 減少하였다.

MTX 注入 2週 後 尾靜脈에서 採取한 血液中의 淋巴球 比率은 正常群이 46.833±2.040(%)이었고 對照群은 42.667±2.472(%)이었으며 四君子湯藥鍼群은 52.500±2.604(%), 四物湯藥鍼群은 46.667±2.215(%)로 나타났다. 이는 四君子湯藥鍼群은 對照群에 比해서 有意性있는 增加를 나타내었으나, 四物湯藥鍼群은 有意性이 없었다.

脾臟을 摘出하여 淋巴球數를 測定한 結果 正常群은 24.000±2.000(5×10^6/ea)이었고 對照群은 107.833±25.115(5×10^6/ea)이었으며 四君子湯藥鍼群은 242.833±39.204(5×10^6/ea), 四物湯藥鍼群은 372.667±29.146(5×10^6/ea)로 나타났다. 이는 對照群에 比하여 四君子湯藥鍼群 및 四物湯藥鍼群 모두에서 對照群에 比해서 有意性있는 差異를 찾아볼 수 있었으며 四君子湯藥鍼과 四物湯藥鍼은 脾臟의 淋巴球數를 增加 시킴으로써 免疫機能을 增强시킬 수 있을 것으로 思慮된다.

脛骨內의 骨髓淋巴球數를 測定한 結果 正常群은 37.500±3.964(125×10^4/ea)이었고 對照群은 63.500±2.790(125×10^4/ea)이었으며 四君子湯藥鍼群은 85.333±9.952(125×10^4/ea), 四物湯藥鍼群은 63.333±9.950(125×10^4/ea)으로 나타났다. 이는 對照群에 比하여 四君子湯藥鍼群은 有意性있는 增加가 있었으나, 四物湯藥鍼群은 有意性이 없었다.

接觸性 皮膚 過敏反應 檢査를 통한 細胞 媒介 免疫反應[2] 觀察하기 위하여 耳廓 腫脹 程度를 測定한 結果 正常群은 0.232±0.026(㎜)이었고 對照群은 0.313±0.035(㎜)이었으며 四君子湯藥鍼群은 0.248±0.038(㎜), 四物湯藥鍼群은 0.202±0.032(㎜)로 나타났다. 이는 本 實驗의 有意性을 檢定하기 위한 一元分散分析을 施行한 結果 $p>0.05$로 나타나 實驗 自體의 有意性이 認定되지 않았다.

胸腺은 年齡에 따라 크기와 分化程度가 다른 淋巴器官으로, 두 개의 큰 잎 모양이며 목아래 胸骨 뒤에 位置하여 葉은 皮質과 水質로 構成된 數千個의 小葉으로 되어 있고, 胸腺 淋巴球들은 皮質部分에 들어 있다. 水質部 안에 染色이 흐리게 되는 것은 胸腺 血球들로 이 細胞는 細胞質에 lysosome, 氣泡, 顆粒들을 가지고 있어서 分泌機能을 하며 여기에서 胸腺 hormone인 thymocin

을 分泌하여 T-細胞의 分化를 刺戟한다.[70,74]

胸腺 組織 切片 觀察 所見上 皮質部位는 胸腺 淋巴球가 規則的으로 채워져서 짙게 染色되고 水質部分은 옅게 染色된다. 胸腺淋巴球는 血液淋巴球와 構造가 비슷하며 骨髓로 부터 그 幹細胞가 옮겨 왔고 細網細胞網을 가득 채워 上皮 細網 細胞들을 덮는다. 水質에는 細胞들이 적으며 胸腺 細胞들 以外에 中間이나 큰 細胞들이 存在하고 特別히 하살 血球 細胞(Hassall thymic corpuscles)가 있다.[74]

이러한 觀察 所見을 基本으로 각 實驗 標本들을 判讀한 結果, 正常群은 胸腺 小葉의 分離가 뚜렷하고 小葉內의 水質과 皮質의 輪廓도 判別하기 쉬웠으며 皮質部分에는 많은 胸腺 淋巴球들이 모여있고 그 옆으로 細胞間質이 나타났고, 水質部分에는 比較的 稀薄한 細胞密度와 染色程度가 淋巴細胞와 다르게 나타났으며 對照群은 胸腺 小葉의 分離는 比較的 뚜렷하였으나 正常群과의 有意한 差異는 觀察하기 어려웠다. 皮質部分에는 많은 淋巴細胞들이 各各 흩어져 있었으며 細胞間質이 만드는 작은 길도 가늘고 뚜렷하지 못하였고, 水質部分은 不分明한 境界와 별로 差異 없는 密度를 나타내고 있었으나 四君子湯藥鍼群의 胸腺 小葉 分離는 比較的 뚜렷하게 나타나고 있었으나 皮質과 水質의 境界는 比較的 分明하지 않았다. 皮質部分에는 胸腺 淋巴 細胞들이 水質 部分보다 조금 짙게 모여 있었고 胸腺 淋巴 細胞들은 皮質과 水質에 全般的으로 고르게 分布되어 있었으며 四物湯藥鍼群은 胸腺 小葉의 分離는 뚜렷하지 않았고, 皮質과 水質部의 境界가 不分明하며 特徵이 뚜렷하지 않았고 組織의 어우러짐이 低調하게 나타났다.

以上의 結果로 보아 四君子湯藥鍼群의 胸線組織이 가장 正常群에 가깝게 恢復된 組織 形態를 나타낸 것으로 思慮된다.

血淸 蛋白質 電氣 泳動像 觀察은 Ig G를 分離檢査하기 위하여 施行한 方法으로 血淸 蛋白質 電氣 泳動像의 展開像에서 Ig G는 50kD의 Heavy chain 2個와 25kD의 Light chain 2個로 構成되어 있는데, 이를 β-mercaptoethanol로 處理하면 Heavy chain과 Light chain의 斷片이 分離된다. 四君子湯藥鍼群 및 四物湯藥鍼群 모두에서 分子量 50,000과 25,000의 位置에 band가 形成된 것이 確認됨으로써 血淸內에 Ig G가 存在함을 視覺的으로 確認할 수 있었다.

以上의 實驗 結果에 따라 四君子湯藥鍼 및 四物湯藥鍼은 有意한 免疫 機能 恢復 效果가 있었으며 그 중 四君子湯藥鍼이 四物湯藥鍼보다 有意한 效果가 있는 것으로 觀察되었다.

V. 結 論

四君子湯 및 四物湯 藥鍼이 免疫反應에 미치는 影響을 觀察하기 위하여 흰쥐의 兩側 脾俞(B20)에 每日 1回씩 18日間 藥鍼刺戟하면서 第5日에 綿羊赤血球로 抗原 感作을 시킨 후 藥鍼始作 第9日과 第11日에 methotrexate를 尾靜脈에 注入하여 免疫機能이 低下된 흰쥐를 對象으로 血中 白血球數와 淋巴球比, 脾臟 淋巴球數, 骨髓淋巴球數, 接觸性 皮膚過敏反應, 胸線 組織 變形破壞 程度 및 血淸 蛋白質 電氣泳動像 등을 測定하였던 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. MTX 注入 前 白血球數는 對照群에 比하여 四君子湯藥鍼群 및 四物湯藥鍼群에서 有意性이 없었으며, MTX 注入 2週 後에는 實驗 自體의 有意性이 成立되지 않았다.

2. MTX 注入 前 淋巴球比는 對照群에 比하여 四君子湯藥鍼群 및 四物湯藥鍼群에서 有意性있는 減少를 나타내었다.

3. MTX 投與 2週 後 淋巴球數는 對照群에 比하여 四君子湯藥鍼群은 有意性있는 增加를 나타내었으나, 四物湯藥鍼群은 有意性이 없었다.

4. 脾臟 淋巴球數는 對照群에 比하여 四君子湯

藥鍼群 및 四物湯藥鍼群에서 有意性있는 增加를 나타내었다.

5. 骨髓 淋巴球數는 對照群에 比하여 四君子湯藥鍼群은 有意性있는 增加를 나타내었으나, 四物湯藥鍼群은 有意性이 없었다.

6. 接觸性 皮膚 過敏反應은 對照群에 比하여 四君子湯藥鍼群 및 四物湯藥鍼群에서 有意性이 없었다.

7. 胸腺 組織 淋巴細胞 形態 變化는 對照群과 四物湯藥鍼群에 比하여 四君子湯藥鍼群은 正常群에 가까운 變化가 있었다.

8. 血淸 蛋白質 電氣 泳動像(SDS-PAGE) 觀察에서 對照群에 比하여 四君子湯藥鍼群 및 四物湯藥鍼群에서 Ig G의 生成이 活發했던 것으로 나타났다.

參 考 文 獻

1. 金聖勳, 鄭燦吉, 郭桂豪 : 東醫病理學, 대전, 한림원, pp.99~100, 1994.
2. 김세종 : 면역학, 서울, 고려의학, pp.8~9, 1994.
3. 金完熙, 崔達永 編 : 臟腑辨證論治, 서울, 成輔社, p.53, 1985.
4. 金完熙 : 東醫生理學, 서울, 慶熙大學校出版局, p.90, 1993.
5. 金定濟 : 診療要鑑(下), 서울, 東洋醫學硏究院, p.189, 209, 1974.
6. 文潤典, 安圭錫, 崔昇勳 : 東醫病理學, 서울, 高文社, pp.22~27, 1993.
7. 文希柱, 權赫儁 : 基本免疫學, 서울, 大學書林, pp.13~14, 1992.
8. 서울대학교 의과대학 편 : 면역학, 서울, 서울大學校出版部, pp.1~3, 1993.
9. 신태성 외 : 조직학실습, 서울, 고문사, pp.289~308, 1993.
10. 안덕균 역 : 면역과 한방, 서울, 도서출판 열린책들, pp.47~48, 1992.
11. 안윤옥 : 實用醫學統計論, 서울, 서울 大學校出版部, pp59~63, 1991.
12. 尹吉榮 : 東醫臨床方劑學, 서울, 明寶出版社, p.254, 293, 447, 1994.
13. 李三悅, 鄭允燮 : 臨床病理檢査法, 서울, 延世大學校出版部, pp.90~92, 1985.
14. 李尙仁, 安德均 : 漢藥臨床應用, 서울, 成輔社 pp.345~350, 1982.
15. 李淵台 譯 : 最新 免疫學, 서울, 集文堂, p.33, 1993.
16. 이종훈 : 병원미생물학, 서울, 壽文社, pp.171~235, 1992.
17. 全國韓醫科大學 鍼灸經穴學敎室 編著 : 鍼灸學 上·下, 서울, 集文堂, p.486, 1993.
18. 鄭遇悅 : 漢方病理學, 裡里, 圓光大學校 漢醫科大學 病理學敎室, p.105~107, 1985.
19. 崔容泰, 李秀鎬 : 精解鍼灸學, 서울, 杏林書院, p.381, 1974.
20. 韓大燮, 高啓昌, 鄭址昌 : 藥理學, 서울, 綠地社, pp.362~363, 1985.
21. 許浚 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, p.90, 113, 1981.
22. 洪元植 編著 : 精校黃帝內經素問, 서울, 東洋醫學硏究院出版部, p.11, 14, 124, 285, 1985.
23. 姜政秀 : 飢餓恢復時 代謝基質·호르몬·血液成分變化에 미치는 四君子湯, 四物湯 및 八物湯의 效果, 大田大學校大學院 博士學位論文, 1995.
24. 高敬錫, 安秉哲, 姜成吉 : 人蔘水鍼이 Methotrexate를 投與한 생쥐의 免疫反應에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, 11 : 37~54, 1988.
25. 高炳熙, 金光湖, 宋一炳 : 四種 鹿茸의 免疫學的 效能에 관한 實驗的 硏究, 大韓韓醫學會誌, 12(1) : 187~202, 1991.

26. 高炳熙, 宋一炳 : 鹿茸地黃湯, 人蔘, 五加皮가 免疫反應 및 NK 細胞 活性度에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, 9 : 193～216, 1986.
27. 金大洙 : 鹿茸, 人蔘 및 靈芝藥鍼이 免疫反應에 미치는 影響, 慶熙大大學院 博士學位論文, 1992.
28. 金大洙 : 三種의 製法에 따른 人蔘水鍼이 Methotrexate를 投與한 생쥐의 免疫反應에 미치는 影響, 慶熙醫學, 5(1) : 97～105, 1989.
29. 金德鎬, 金秉雲 : 歸茸湯이 免疫反應에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 6(2) : 55～63, 1985.
30. 金聖洙, 安圭錫, 金光湖 : 人蔘 및 熟地黃이 Methotrexate로 誘發된 생쥐의 免疫反應 低下에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, 9 : 355～366, 1986.
31. 金聖勳 : 四君子湯, 四物湯 및 八物湯이 Prednisolone으로 誘發된 생쥐의 免疫反應低下에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院 博士學位論文, 1987.
32. 金鍾達 : 鹿茸水鍼이 MTX로 誘發된 생쥐의 免疫反應低下에 미치는 影響, 大邱韓醫大 博士學位論文
33. 金泰潤, 姜成吉 : 人蔘水鍼前處置가 發癌豫防에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 9(2) : 33～44, 1988.
34. 盧宗植 : 鹿茸, 人蔘, 鴨跖草 水鍼의 糖尿病에 대한 效果 및 免疫機能에 미치는 影響, 慶熙大 博士學位論文, 1988.
35. 朴恩貞, 丁奎萬 : 歸脾湯과 歸脾湯加味方이 마우스의 過敏反應 및 免疫細胞의 機能에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 11(2) : 1～169, 1990.
36. 朴鎭雄, 高炳均, 金昌煥 : 濃度差에 따른 黃耆藥鍼이 Methotrexate를 投與한 생쥐의 免疫反應에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 11(1) : 67～81, 1994.
37. 裴元永, 高炳均, 金昌煥 : 黃耆藥鍼이 Methotrexate를 投與한 생쥐의 免疫反應에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 11(1) : ～66, 1994.
38. 裵鍾局, 申玟圭, 金完熙 : 四君子湯과 四物湯 Extrate 投與가 Rat의 成長에 미치는 影響, 慶熙漢醫大論文集, 1 : 105～110, 1978.
39. 宋允喜, 金在圭, 崔容泰 : 溫鍼이 Methotrexate를 投與한 생쥐의 免疫 反應低下에 미치는 影響, 慶熙漢醫大論文集, 12 : 301～314, 1989.
40. 宋允喜, 崔容泰 : 溫鍼, laser鍼 및 毫鍼이 寒冷刺戟으로 低下된 생쥐의 免疫機能에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, 15 : 69～90, 1992.
41. 安琇炫, 林圭庠, 李起男 : 四君子湯·四君子湯加黃芪 煎湯液이 生肌作用에 미치는 影響, 大韓韓方外官科學會誌, 2(1) : 17～32, 1989.
42. 李南九, 李炫昌, 朱榮丞 : 四君子湯이 생쥐의 免疫反應 및 NK細胞의 細胞毒性에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 10(2) : 115～122,1989.
43. 李相範, 朴英培, 姜成吉 : 艾灸가 寒冷刺戟으로 低下된 생쥐의 免疫機能에 미치는 影響, 경희한의대논문집, 15 : 4～466, 1992.
44. 李永燦, 田炳薰 : 巴豆를 加味한 四君子湯 및 四物湯의 抗癌效果에 대한 硏究, 大韓東醫病理學會誌, 9 : 79～100, 1994.
45. 李哲浣 : 四君子湯, 四物湯 및 八物湯이 筋肉疲勞恢復에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院 博士學位論文, 1988.
46. 林사비나 : 穴位別 溫鍼이 放射線 被曝에 의한 免疫機能低下에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 15(2) : 191～206, 1995.
47. 林사비나, 李惠貞 : 靈芝水鍼이 寒冷刺戟으로 低下된 생쥐의 免疫反應에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 13(1) : 71～84, 1992.
48. 周泰靑, 崔容泰 : 溫鍼이 寒冷에 露出된 생쥐의 免疫機能 低下에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集 15 : 297～312, 1992.
49. 車容碩, 金在圭, 崔容泰 : 熊膽.牛黃 및 向日癸油藥鍼刺戟이 생쥐 皮膚癌의 免疫機能에

미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌 10(1) : 9~19, 1993.
50. 崔旼燮, 高炯均, 金昌煥 : 鍼灸療法이 免疫機能에 미치는 影響에 관한 考察, 大韓鍼灸學會誌 10(1) : 61~74, 1993.
51. 崔平洛, 金光湖 : 鹿茸이 Methotrexate로 誘發된 免疫反應 低下에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, 10 : 589~604, 1987.
52. 하대유 : 인삼에 대한 세포학 및 면역학적 연구(제III보), 대한면역학회지, 1(1) : 45~52, 1979.
53. 黃敬愛, 高炯均, 金昌煥 : 人蔘 및 鹿茸水鍼의 時間經過에 따른 免疫效果硏究, 慶熙醫學 4(2) : 150~157, 1988.
54. 黃琄叙, 安秉哲, 朴東錫 : 濃度別 當歸藥鍼이 放射線 被曝에 의한 免疫機能低下에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 11(1) : 113~130, 1994.
55. 龔廷賢 : 增補萬病回春(上冊), 서울, 도서출판 일중사, pp.164~165, 1994.
56. 羅天益 : 衛生寶鑑, 서울, 金剛出版社, p.55, 1981.
57. 南京中醫學院編 : 中醫方劑學, 香港, 上海科技出版社, p.155, 162, 166, 1964.
58. 樓全善 : 醫學綱目(卷四), 台南, 全國各大書局, p.7, pp.11~12, 1973.
59. 上海中醫學院 : 鍼灸學, 香港, 商務印書館, pp 134, 1975.
60. 上海中醫學院 編 : 方劑學, 香港, 商務印書館, pp.171~173, 1975.
61. 王琦 등 : 黃帝內經 素問 今釋, 서울, 成輔社, pp.412~418, 1983.
62. 汪訒庵 : 醫方集解, 台北, 文光圖書有限公司, pp.28~30, 144~149, 1986.
63. 虞摶 : 醫學正傳, 서울, 成輔社, pp.154~156, 1986.
64. 李大琦 : 中醫方劑學, 中國, 四川科學技術出版社, pp.94~95, 97~98, 1988.
65. 李用粹 : 證治彙補, 台北, 施風出版社, p.69, 75, 1976.
66. 李涵馥 : 國醫指南, 台北, 新文豊出版公司, pp.94~95, 1977.
67. 陳師文 등 : 太平惠民和劑局方, 서울, 慶熙漢醫科大學, p.115, 242, 1974.
68. 河南中醫學院 編 : 治法與方劑, 中國, 人民衛生出版社, pp.132~134, 137~138, 1977.
69. 韓先達 : 試論中醫治則與免疫調節, 浙江中醫學院部, 15(5) : 8~9, 1991.
70. Frithjof Hammersen : Histology, Baltimore, U.S.A., Urban & Schwarzenberg, pp.104~105, 1980.
71. H. B. Waynforth & P. A. Flecknell : Expreimental and surgical technique in the RAT, Sandiego, U.S.A. ACADEMIC PRESS, pp.71~73, 257~263, 303~309, 313~340, 1992.
72. Jone E. Coligan, Ada M. Kruisbeek, David H. Margulies, Ethan M. Shevach, Warren Strober : Current Protocols in Immunology(Volume 2), New York, John Wiley & Sons, Inc., pp.10.7.1~10.7.6, 1995.
73. Terrance G. Cooper : The Tools of biochemistry, Singapore, Wiley-intersci ence, pp.194~233, 1977.
74. Tomes S. Lesson, C. Roland Lesson, Anthony A. Paparo : Text Atlas of Histology, Philldelphia, U.S.A., pp.342~360, 1988.