

# 人蔘藥鍼이 glucocorticoid투여 Mouse의 면역반응에 미치는 영향

李 殷 洪 · 文 振 榮 · 林 鍾 國\*

## ABSTRACT

Effects of aqua-acupuncture with Panax Ginseng  
on immune response induced by Glucocorticoid in mouse

Eun-Hong LEE, Jin-Young MOON, Jong-Kook LIM  
College of Oriental Medicine, Dongguk University, Kyongju, 780-714

In order to investigate the effect of aqua-acupuncture solution with Panax Ginseng into Qihai(CV<sub>6</sub>) and Shenshu(BL<sub>23</sub>) on immune response induced by glucocorticoid in mouse, Panax Ginseng aqua-acupuncture solution was injected into Qihai(CV<sub>6</sub>) and Shenshu(BL<sub>23</sub>) for seven days after injection with glucocorticoid. And then MA-HRP (methamphetamine-horseradish peroxidase) induced antibody production, numbers and lysozyme activity in macrophage were measured.

The results were as follows :

1. The antibody production in mouse immunized with MA-HRP was decreased in control group as compared with normal group. Although Qihai(CV<sub>6</sub>) group showed slight increasement, Shenshu(BL<sub>23</sub>) group indicated great increasement compared with normal group. However in Aa-BL group, antibody production was almost increased to normal group.

---

\* 東國大學校 韓醫科大學 經穴學教室

2. In control group, the numbers of macrophage were decreased about 14% as compared with normal group. And in the pretreated groups of Qihai(CV<sub>6</sub>) and Shenshu(BL<sub>23</sub>) were respectively increased 3.0 times and 2.9 times as compared with normal group.

3. Effect of Panax Ginseng-aqua acupuncture solution on the lysozyme activity in macrophage was increased gradually in the pretreated groups of Qihai(CV<sub>6</sub>) and Shenshu(BL<sub>23</sub>) as compared with control group.

These results suggest that Panax Ginseng aqua-acupuncture at Qihai(CV<sub>6</sub>) and Shenshu(BL<sub>23</sub>) may increase antibody production and lysozyme activity in macrophage that is suppressed by glucocorticoid, and Panax Ginseng aqua-acupuncture will have immuno adjuvant effects on the cells which concerned with immunomechanisms.

## I. 緒 論

原氣는 先天之氣이며, 水穀之氣와 呼吸之氣의 結合인 宗氣, 즉 後天之氣와 함께 經脈中에 運行하면서 身體를 充養하고 生命을 維持하는 作用을 하는데, 이 宗氣와 原氣의 結合을 眞氣 또는 正氣라 한다<sup>2)</sup>. 東洋醫學에서 免疫에 對한 概念은 素問·四氣調神大論<sup>3)</sup>의 “不治已病 治未病”이라 하고 刺法論<sup>1)</sup>에서도 “正氣存內 邪不可干”이라 하여 疾病의 成立 過程中에서 生體의 抵抗性을 重要하게 여겼고 그 關與因子를 正氣라고 하였다. 靈樞·百病始生篇<sup>2)</sup>에서 “風雨寒熱 不得虛邪不得獨傷人 卒然逢疾風暴雨而不病者蓋無虛故邪不能獨傷人”이라 하여 正氣虛弱이 疾病發生의 根本的 要因임을 示唆하였는데 疾病이란 人體의 正常的인 生命活動과 人체와 外部環境間의 調和 狀態를 破壞하는 諸因子인 邪氣의 侵入에 起因하는 것이다.<sup>21,22)</sup> 이러한 邪氣에 反하는 概念으로서의 正氣는 外部의 異物質에 對하여 人體의 內的環境을 維持하기 위한 免疫反應과 相關性이 있다고 볼 수 있으며 正氣를 도와 邪氣를 除去하는 이른바 “扶正祛邪”<sup>21)</sup>의 治法이 指示 되어 疾病의 治療 및 豫防에 應用되어 왔다. 代表的인 補氣藥<sup>4,25)</sup>인 人蔘(Panax ginseng C. A. Meyer)<sup>6)</sup>은 神農本草經<sup>5)</sup>에 效能이 처음 記錄된

以來 多様な 證候<sup>4,6,13,14,25,26)</sup>에 폭넓게 使用되어 왔다. 補氣藥은 正氣가 虛하여 外部로부터 들어오는 邪氣의 侵犯을 받아 疾病이 誘發되는 境遇나 疾病後 正氣가 虛한 狀態에 正氣를 補하여 濟 目的으로 使用 되어진다. 藥鍼療法은 經絡學說의 原理에 依據하여 有關한 穴位, 壓通點 혹은 體表의 觸診으로 얻어진 反應點에 各種藥物を 注入하여 刺鍼效果와 藥物作用을 동시에 보는 新鍼療法<sup>7,31)</sup>이다. 人蔘藥鍼에 對한 實驗의 報告로는 金<sup>35)</sup>이 發痛豫防效果를 李<sup>37)</sup>는 鎮痛效果를 高<sup>36)</sup>는 methotrexate에 의한 免疫增進效果를 金<sup>39)</sup>은 ethanol 中毒의 解毒效果에 대하여 報告하였다. 이에 著者는 任脈經의 腹部腧穴로 元氣가 聚하는 곳이며 補腎虛 調氣益元 和營血하는 穴性<sup>8,9)</sup>을 가진 氣海(CV<sub>6</sub>)와 足太陽膀胱經의 經穴로 腎臟의 腧穴이며 補腎臟 益水壯火 補腎益精하는 穴性<sup>13,16)</sup>을 가진 腎俞(BL<sub>23</sub>)가 虛勞 및 全身虛衰證<sup>10,11)</sup>의 治療에 活用되고 있는 點에 着眼하게 되었다. 따라서 本 實驗에서는 glucocorticoid 投與로 免疫機能이 低下된 mouse의 氣海(CV<sub>6</sub>)와 腎俞(BL<sub>23</sub>)에 人蔘藥鍼을 投與한 後, 低下된 免疫 機能에 어떠한 影響을 미치는지를 比較·觀察하기 위하여 macrophage의 抗原處理能 및 B 細胞의 抗體 生成能을 檢討한 바 有意性 있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

## II. 實驗材料 및 方法

### 1. 實驗材料

#### 1) 試藥

本 實驗에서 사용한 시약중 면역 억제제로 사용한 glucocorticoid는 Upjohn사(Solu-Medrol, Korea), Micrococcus lysodeikticus, complete Freund's adjuvant 는 Sigma사(Sigma Chem. Co., St. Louis, MO, U.S.A.)의 제품을, 그리고 biotinylated anti-mouse IgS 및 alkaline phosphatase conjugated streptavidin은 Zymed 사(Zymed Lab., California, U.S.A.)의 제품을 사용하였고, 그 외에 사용한 일반 시약들은 특급 또는 일급 제품을 사용하였다.

#### 2) 實驗動物

本 研究에 使用된 實驗動物은 8주령의 암컷 ICR mouse(체중 20-25g)로서 한국과학기술연구원 유전자원센터에서 구입하여 1週日 정도 본 실험실에서 適應시킨 뒤 실험에 사용하였다.

#### 3) 試料

本 實驗에서 藥鍼液의 製造를 위해 使用된 人蔘은 東國大學校 附屬韓方病院에서 購入한 것을 精選하여 使用하였다.

### 2. 實驗方法

#### 1) 藥鍼液의 製造<sup>17)</sup>

人蔘(Panax ginseng C. A. Meyer)<sup>6)</sup> 300g을 取해 粗末하여 圓底 flask에 넣고, 蒸溜水 2,000 ml를 加한 後, 3時間 煎湯하여 抽出하고 濾過하였다. 濾液을 rotary evaporator로 減壓濃縮하고 濃縮液에 蒸溜水를 加하여 全量을 200ml가 되도록 한 다음, 室溫까지 冷却하고 ethanol을 加하여 75% ethanol 溶液으로 되게 한 다음, 攪拌하고 低溫에서 放置하여 生成된 沈澱物을 濾別하

였다. 濾液을 다시 rotary evaporator로 減壓濃縮한 濃縮液에 蒸溜水 100ml를 加하고 溶解시킨 後, ethanol을 加하여 85% ethanol 溶液으로 되게 한 다음 攪拌하고 低溫에서 放置하여 生成된 沈澱物을 濾別하였다. 濾液을 다시 rotary evaporator로 減壓濃縮한 濃縮液에 蒸溜水 100 ml를 加하고 溶解시킨 後, ethanol을 加하여 95% ethanol 溶液으로 되게 한 다음 攪拌하고 低溫에서 放置하여 生成된 沈澱物을 濾別하였다. 濾液을 다시 rotary evaporator로 減壓濃縮하여 生成된 濃縮液에 生理食鹽水를 加하고 1N NaOH로 pH 6~7로 調節하여 全量이 1,000ml가 되게 한 다음, 低溫에서 24時間 放置한 後 nuclepore filter (0.22 $\mu$ m, 직경 25mm, Whatman ®, Germany)로 濾過하고 加壓滅菌하여 藥鍼液으로 使用하였다.

#### 2) 實驗群 分類

Mouse 7마리를 한 群으로 하여, 아무런 處置도 하지 않은 群[正常群, Normal], glucocorticoid만 投與한 群[對照群, Control], glucocorticoid를 投與하고 任意穴에 人蔘藥鍼을 施術한 群[任意群, Aa-BL], glucocorticoid를 投與하고 氣海에 人蔘藥鍼을 施術한 群[氣海群, Aa-QH], glucocorticoid를 投與하고 腎俞에 人蔘藥鍼을 施術한 群[腎俞群, Aa-SS]으로 나누어서 實驗을 施行하였다.

#### 3) 取 穴

人體의 氣海(CV<sub>6</sub>) 腎俞(BL<sub>23</sub>)에 解剖學的으로 相應하는 部位를 選擇하여 털을 除去한 後, 耳電探測器 CS-202(三共電子工業株式會社, 日本)를 使用하여 그 反應點으로 다시 確認하였다.

#### 4) 檢液의 投與

Glucocorticoid는 一週日 동안 腹腔으로 投與하였으며(1회 80mg/kg)<sup>47)</sup>, 人蔘藥鍼液은 glucocor-

ticoid를 投與한 後, 氣海와 任意穴은 0.2ml, 腎俞는 左右 各各 0.1ml 씩 7일동안 處置하였다. 한편 人蔘藥鍼의 投與로 인하여 glucocorticoid에 의해 抑制된 抗體生成能에 미치는 影響을 알아보기 위하여 glucocorticoid를 投與한 後, 24時間 後에 抗原으로서 MA-HRP(methamphetamine-horseradishperoxidase)을 使用하여 免疫한 다음, 各 穴로 人蔘藥鍼을 投與하였다. (Table 1.)

서 하룻밤 흡착시키고 3% BSA-PBS로 室溫에서 2時間 동안 blocking 하였다. 0.05% Tween-20을 포함하는 PBS-Tween으로 3회 洗滌하고 primary antibody인 anti-MA 血清을 1% BSA-PBS로 여러 濃度로 serial dilution하여 各 well당 50 $\mu$ l씩 분주하고 室溫에서 2時間 동안 反應시킨 다음 PBS-Tween으로 3회 洗滌하였다. 그 다음 secondary antibody인 biotinylated

Table 1. 實驗群의 分類와 檢液의 投與

Group		Glucocorticoid 투여 (80 mg/kg)	MA-HRP 면역 (10 $\mu$ g/mouse)	인삼약침 투여 (0.2 $\mu$ l/mouse)
정상군	Normal	-	복 강	-
대조군	Control	7 일	복 강	-
임의군	Aa-BL	7 일	복 강	임의혈, 7일
기해군	Aa-QH	7 일	복 강	기해혈, 7일
신수군	Aa-SS	7 일	복 강	신수혈, 7일

### 5) Adjuvant 活性測定

抗原으로는 hapten(不完全抗原)인 MA-HRP(methamphetamine-horseradish peroxidase)를 사용하였으며, complete Freund's adjuvant와 同量으로 混合해서 腹腔으로 免疫하고 人蔘藥鍼液을 0.2ml를 各 穴로 投與하면서 7日 經過後 採血하였다. 血液은 상온에서 30分間 放置한 다음 3,000rpm에서 10分間 遠心分離하여 血清을 回收하여 PBS(phosphate buffered saline)로 희석계열을 만들어 血中の anti-MA 抗體의 力價를 ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay) 방법으로 測定하였다.

### 6) ELISA에 의한 抗體의 力價測定<sup>48,49)</sup>

抗體의 力價測定은 ELISA法으로 測定하였다. MA-HRP를 coating buffer(pH 9.0)로 2 $\mu$ g/ml로 調整한 후, 96 well plate(Nunc. Inter Med. Co., Denmark)에 well당 50 $\mu$ l씩 분주한 다음, 4 $^{\circ}$ C에

anti-mouse IgS(Zymed사)를 1% BSA-PBS로 1,000배 희석한 다음, well당 50 $\mu$ l씩 분주하고 室溫에서 2時間 反應시킨 後, PBS로 3회 洗滌하였다. 그리고 alkaline phosphatase conjugated streptavidin(Zymed사)을 1% BSA-PBS로 1,000배 희석한 다음 well당 50 $\mu$ l씩 분주하고 室溫에서 1時間 反應시킨 후, PBS로 3회 洗滌하였다. 그런 後 기질인 PNPP(para-nitrophenylphosphate) 10mg을 0.5mM MgCl<sub>2</sub>를 포함하는 10mM ethanolamine(pH 9.5) 溶液에 完全히 녹인 다음 50  $\mu$ l씩 well당 분주하여 20分 동안 反應시키고 0.1M EDTA 溶液을 well당 50 $\mu$ l씩 분주하여 反應을 中斷시킨 다음 ELISA reader(Titertek Multiscan MCC/340, Lab. System. Finland)로 492nm에서 吸光度를 測定하였다.

### 7) Macrophage數 測定

Mouse를 질식시키고 腹部를 소독한 다음 皮膚

를 切開하여 벗기고 PBS 7ml을 注射한 後, 배 언저리를 약 2分 동안 同一한 條件으로 가볍게 맞사지 하고 주사기로 腹腔의 PBS를 回收하였다. 이 過程을 一定量으로 2回 反復한 後, macrophage를 모은 다음 0.05% tryphan blue를 使用해서 hemocytometer로 macrophage 數를 測定하였다.

8) Lysozyme 活性測定<sup>50)</sup>

Mouse의 腹腔에서 分離한 macrophage를 10초 간 4回 초음파 처리하여 細胞膜을 完全히 破碎한 다음 9,000g에서 20分間 遠心分離하여 얻은 상층액을 효소원으로 使用하기 爲하여 4℃에 보관하였다. Lysozyme 活性도는 Micrococcus lysodeikticus(Sigma사)의 용해율로 測定하였다. 즉 0.1M potassium phosphate (pH 7.0) 완충 용액에 Micrococcus lysodeikticus를 0.3mg/ml 되게 현탁시킨 溶液 2.9ml에 상층액 100 $\mu$ l를 添加 하여서 37℃에서 0分, 30分, 60分, 90分, 120分, 150分, 180分 反應시켰다. 그 後 450 nm에서 吸光度를 測定하였으며 微生物 顯濁液에 蒸溜水를 添加하여 反應시킨 것과 比較하여 lysozyme 活性를 나타내었다.

9) 統計學的 處理

對照群과 人蔘藥鍼液 處置群의 實驗結果에 대하여 student's t-test를 行하여 P값이 0.05 以下인 경우에 有意성을 認定하였다.

III. 實驗結果

1. Adjuvant의 活性에 미치는 影響

抗體를 形成하는 能力을 가진 B 細胞는 脊椎動物의 身體를 構成하고 있는 약 200여종의 細胞 중에서 가장 研究가 活潑하게 進行中인 細胞의 한 種類이다. B 細胞의 抗體 生成能力의 測定은 實驗動物에 抗原을 注射하여 誘導된 免疫反應을 注射한 抗原에 對한 血清內 免疫 글로블린의 力價로 나타낸다. 人蔘藥鍼液이 hapten인 MA-HRP가 誘導하는 면역원성에 미치는 影響을 Fig.

1에 나타내었다. 正常群의 MA-HRP에 對한 抗體의 力價는 對照群보다 有意性있는 차이를 나타냈으며 人蔘藥鍼液을 任意穴로 投與한 實驗群에서는 正常群에 비하여 別다른 變化를 보이지 않았다. 또한 氣海에 投與한 實驗群에서는 正常群보다 다소 增加하는 傾向을 나타내었다. 한편 腎俞에 投與한 實驗群에서는 抗體의 生成이 正常群보다도 큰 폭으로 增加現象을 나타냄을 알 수 있었다. 뿐만 아니라 氣海보다도 腎俞가 力價가 훨씬 높은 것으로 나타났다. 한편 任意穴群에서도 거의 正常群 水準에 가까운 抗體의 力價를 나타내었다.

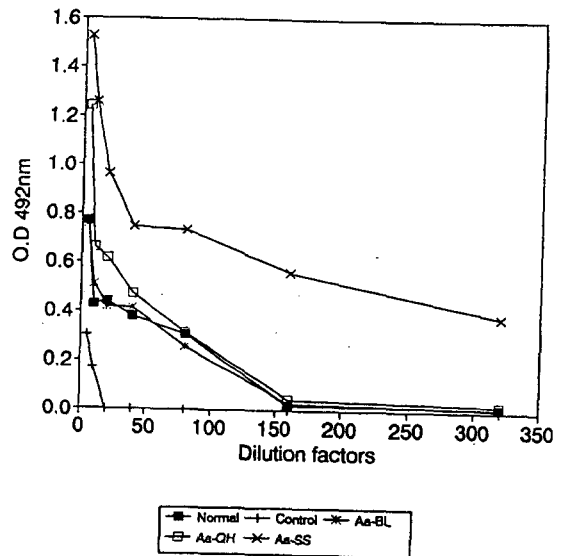


Fig. 1. Effects of P.G-Aqua acupuncture Solution on MA-HRP induced Antibody Production  
Microtiter plates were coated with 2 $\mu$ g/ml of MA-HRP. Antibodies production were detected with biotinylated anti-mouse IgS and alkaline phosphatase conjugated streptavidin. Normal: untreated group; Control: Control group was injected with glucocorticoid(80mg/kg) into the peritoneum for 7days; Aa-BL group was injected of P.G-aqua acupuncture into blank locus for 7days after injection with glucocorticoid; Aa-QH: Aa-QH group was injected of P.G-aqua acupuncture into Qihai(CV<sub>6</sub>) for 7days after injection with glucocorticoid; Aa-SS: Aa-SS group was injected of P.G-aqua acupuncture into Shenshu(BL<sub>23</sub>) for 7days after injection with glucocorticoid.

## 2. Macrophage의 活性에 미치는 影響

抗體의 生成은 pre B 細胞가 分化하여 성숙 B 細胞를 거쳐서 plasma 細胞로 分化되기 前段階로서 macrophage가 B 細胞에 對하여 抗原제시가 先行되어야 함으로 macrophage가 phagocytosis한 抗原을 細胞內에서 抗原提示에 適當한 크기로 절편화가 이루어지게 된다. 그래서 本 實驗에서는 人蔘藥鍼이 ICR mouse 腹腔內의 macrophage 活性에 어떠한 影響을 미치는가를 調査하여 보았다. 人蔘藥鍼에 依한 macro phage의 活性을 調査하기 위하여 人蔘藥鍼液 投與後 各 實驗群의 mouse 腹腔內에서 macro phage를 回收하여 그 數를 測定하였다. 그 結果 Fig. 2에서 보는 바와 같이 正常群에 比하여 gluco corticoid 投與群에서는 약 0.9배로 macrophage의 數가 減少함을 알았다. 한편 氣海群과 腎俞群에서는 macrophage의 數가 正常群보다 各各 3.0배 및 2.9배 정도로 顯著하게 增加하였고, 任意穴群에서도 正常群에 比하여 약 2.8배 정도로 增加함을 알 수 있었다. 本 實驗의 結果로서 人蔘藥鍼液을 氣海 및 腎俞에 投與한 實驗群에서는 macrophage를 活性化하여 macro phage의 增殖에 影響을 미침을 알 수 있었다.

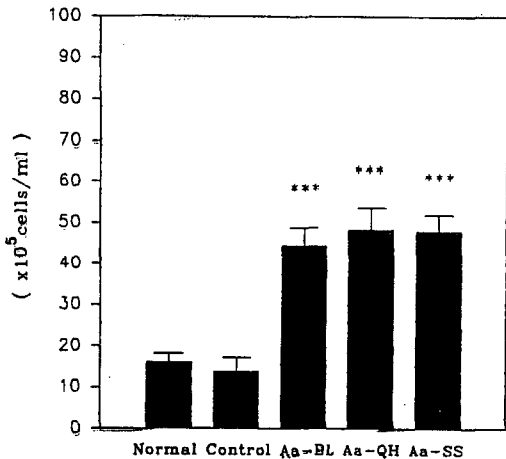


Fig. 2. Effects of P.G-Aqua acupuncture Solution on the Macrophage Numbers.

The numbers of macrophage were counted by hemovytometer using 0.05% trypan blue. Other reagent are the same as Fig. 1.

\* : values statistically significant as compared with control data of each group. (\*\*\*) : p<0.01

## 3. Lysozyme의 活性에 미치는 影響

本 實驗에서는 抗原의 절편화에 關聯된 酵素인 lysozyme의 活性을 測定하여 Fig. 3 에 그 結果를 나타내었다. 人蔘藥鍼液을 氣海 및 腎俞에 投與한 實驗群에서는 Micrococcus lysodeik- ticus의 菌 顯濁液이 lysozyme의 增加에 依해 顯著하게 分解가 빨라져 時間이 지남에 따라서 反應液이 점차로 투명하게 變하게 됨을 吸光度를 통해 알 수 있었다. 本 實驗에서는 4時間의 培養結果 밖에 나타내지 않았으나, 4時間 以後에서도 氣海群과 腎俞群은 對照群에 比하여 급격히 減少하는 傾向을 나타내었다. 任意穴로 投與한 群에서도 lysozyme의 活性이 비교적 강하게 나타남을 알 수 있었는데 이는 Fig. 2의 結果에서와 같이 macrophage의 增加율과 비례함을 알 수 있었다. Lysozyme의 活性이 높아짐은 抗原을 phagocytosis한 macrophage가 lysosome에서 抗原을 원활하게 처리하여 MHC (major histocompatibility complex)와 함께 그 表面에 제시할 可能性이 높다고 思慮되고 그만큼 B 細胞를 活性化시킬 확률이 높아진다고 생각되어진다.

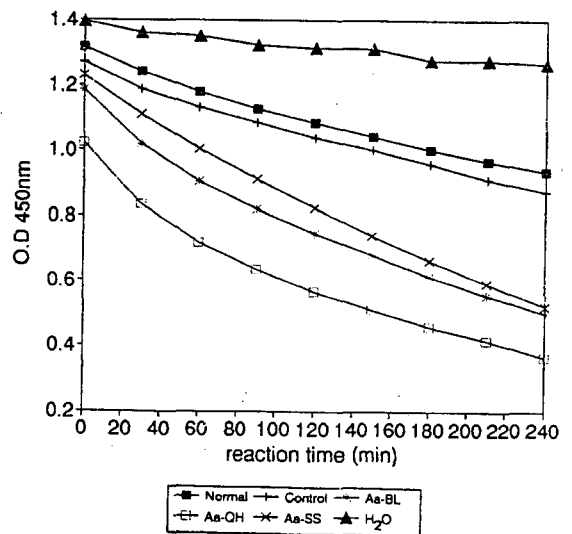


Fig. 3. Effects of P.G-Aqua acupuncture Solution on the Lysozyme Activity in Macrophage.

Lysozyme activity was measured by absorbance at 450nm after incubation, for 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210min and 240min respectively. Other reagent are the same as Fig. 1.

#### IV. 考 察

東洋醫學에서 말하는 免疫에 대한 概念은 素問·上古天真論<sup>3)</sup>의 “眞氣從之 精神內守 病安從來”와 素問·刺法論<sup>1)</sup>의 “正氣存內 邪不可干”, 素問·評熱病論<sup>2)</sup>의 “邪之所湊 其氣必虛”라 하였으니 眞氣는 正氣를 말하는 것이며 正氣는 邪氣에 反對되는 概念으로서 外邪의 作用을 防禦하는 同時에 精神內守하게 함으로 體內 陰陽平衡을 調節하여 內邪를 소제하고 臟腑, 經絡, 榮衛, 氣血의 正常生理機能을 維持시키고 正常的인 生理活動을 進行시키며 邪氣는 人體內외의 治病因子를 總稱하는 것이다.<sup>30)</sup> 반면 西洋醫學에서 말하는 免疫概念이란 生體가 自己와 非自己를 鑑別하는 機構이며 外部로부터 侵入하는 微生物, 同種의 組織이나 體內에 생긴 不必要한 產物 등을 非自己인 抗原으로 認識하고 特異하게 反應하여 抗體를 生産하여 이를 排除함으로서 그 個體의 恒常性을 維持하는 現象이라고 正義하는데<sup>19,20)</sup> 이는 東洋醫學에 있어서 正氣와 邪氣의 抗爭過程으로 여겨질 수 있는 것이라 생각된다. 藥鍼療法이란 人體가 일으키고 있는 疾病에 對하여 그 疾病을 가장 잘 治療할 수 있는 藥物을 選定하여 有效成分을 選定한 다음 이것을 該當疾病을 가장 效果의으로 治療할 수 있는 經穴또는 痛處에 注入하는 方法으로서 經絡 經穴의 治療作用과 藥物의 藥理作用을 混合한 治療方法이다.<sup>7,18,23)</sup>

人蔘(Panax ginseng C. A. Meyer)은 神草, 血蔘, 黃蔘 等<sup>5,25)</sup>의 異名을 갖고 있는 五加科(Araliaceae)에 屬하는 多年生草本인 蔘의 根으로<sup>25)</sup> 代表的인 補氣藥<sup>4,25)</sup>이라고 할 수 있는데 B.C 33-48년에 史遊의 急就章에 그 名稱이 처음으로 記錄되어 있으며 後漢代의 神農本草經<sup>5)</sup>에 “味甘微寒 主補五藏 安精神 定魂魄 止驚悸 除邪氣 明目 開心益智 久服輕身延年”의 藥效가 있다고 記錄된 이래로 大補肺中元氣 氣虛欲脫 食欲不振 倦怠 反胃吐食 霍亂 大便滑泄 虛咳喘促 短氣 少氣 自汗 神志不安 心悸怔忡 失眠 健忘 眩

暈頭痛 腸胃中冷 心腹鼓痛 胸脇逆滿 消渴 口渴 汗多 汗出肢冷 氣虛脈弱 久瀉脫肛 妊娠吐水 煩燥 痲瘡 肺痿 吐膿消痰 血淋 血崩 吐血 下血 小兒慢驚等<sup>4,6,13,14,25,26)</sup>의 매우 多樣한 證候에 폭넓게 使用되어 왔다. 人蔘에 關한 免疫學的 研究는 鄧<sup>29)</sup>, 具<sup>24)</sup>, Singh<sup>53)</sup> 및 Yu<sup>54)</sup> 등이 人蔘의 免疫調節效果를 報告하였고 細胞性 및 體液性免疫에 미치는 影響에 對하여 河<sup>40)</sup>, 宮<sup>27)</sup> 및 Chong<sup>55)</sup> 등은 細胞性 免疫 增進效果를, 韓<sup>41)</sup> 崔<sup>28)</sup> 등은 體液性 免疫增進效果를, Miroshnichenko<sup>56)</sup>는 體液性 免疫反應에서 有意性이 없다고 하였으며 高<sup>42)</sup>, 金<sup>43)</sup> 및 조<sup>44)</sup>는 細胞性 및 體液性 免疫增進效果를 報告하였다. 人蔘藥鍼을 使用한 實驗的 研究로는 金<sup>45)</sup>의 鹿茸, 人蔘 및 靈芝水鍼이 免疫反應에 미치는 影響, 高<sup>36)</sup>의 人蔘水鍼이 MTX를 투여한 생쥐의 免疫反應에 미치는 影響, 盧<sup>38)</sup>의 鹿茸, 人蔘, 鴨跖草 水鍼의 糖尿病에 對한 效果 및 免疫機能에 미치는 影響 등의 報告를 접할 수 있는데, 이러한 人蔘의 免疫調節 效能研究에서 연구자에 따라 多少 異論이 存在함을 알 수 있으며, 게다가 人蔘藥鍼療法의 免疫增強效果에 對한 研究는 아직 未洽한 실정이라고 思料되었다. 本 實驗에 使用된 腎俞(BL23)는 五臟六腑의 氣가 背部에 輸注하여 發願하는 足太陽膀胱經의 經穴로 素問·通評虛實論<sup>1)</sup> 및 靈樞·背俞篇<sup>2)</sup>에 처음 보이며 一名 高蓋<sup>32,32)</sup>라고 불리며, 腎之俞穴로서 腎氣가 轉輸되는 곳이며 先天의 元氣가 溜宿하는 곳으로 精을 藏하는 一身精力의 發源地<sup>15,16)</sup>라 하였다. 또한 氣海(CV6)는 任脈經의 腹部 臍穴로서 靈樞·九針十二原篇<sup>2)</sup>에 처음 보이며 臍臑, 下育等<sup>2,33,34)</sup>의 異名이 있고, 生氣之海 元氣之聚 生氣之源이며 補腎虛 調氣益元 和營血 溫下焦하는 穴性이 있다<sup>9,10,32)</sup>하였다.

本 實驗에서 mouse의 免疫機能을 人爲的으로 低下시킬 目的으로 使用된 glucocorticoid는 細胞間의 免疫應答을 抑制하는 代表的인 製劑로서 移植片拒絶反應, 骨髓移植後에 急性移植片對宿主病抑制 및 自家免疫疾患의 治療劑로 널리 使用

하는 물질이다.<sup>46)</sup> 이는 細胞性 免疫 및 體液性 免疫을 同時に 抑制시키며, macrophage의 유주억제, macrophage의 항원 처리능 억제, 임파구의 항원에 대한 감각억제와 interleukin-2의 생성억제 및 세포손상성 T 細胞의 거절반응을 억제시키는 製劑이다.<sup>47)</sup> 또한 이 製劑는 저렴하고, 抗 allergy에 卓越한 效果를 나타내므로 지금까지 臨床에서 여러 用度로 많이 使用되어지고 있는 藥物중의 하나이다. 同時に 免疫機能低下로 因한 感染症, 腎障害 등 많은 副作用도 頻繁히 發生하고 있다. 이에 著者는 先天의 元氣가 溜宿하는 곳으로 精을 藏하는 腎臟의 腧穴인 腎俞와 元氣가 聚하는 곳인 氣海를 擇하여 glucocorticoid를 mouse에 投與하여 人爲的으로 免疫機能低下를 誘發시킨 後 人蔘藥鍼이 低下된 免疫 機能에 어떠한 影響을 미치는지를 實驗을 通하여 糾明하고자 하였다.

一般的으로 macrophage의 食食機轉은 macrophage가 antigen presenting 細胞로서 단백질과 같은 soluble한 form으로 侵入한 抗原을 細胞內로 끌어들이어 작은 polypeptide 조각으로 分解시켜 class II MHC(major histocompatibility complex)分子와 함께 細胞表面으로 제공하여 helper T 細胞로 하여금 그 抗原을 인식하게 함으로서 抗原에 대한 免疫反應을 유도하여 B 細胞가 직접 抗體를 만들도록 lymphokine을 分泌하여 도와준다. Macrophage의 이러한 機能은 外部로부터의 刺戟에 의해서 活性化 되었을 때 더욱 그 機能을 發揮하게 되며 이러한 外部刺戟은 lymphokine이나 endotoxin 등에 의해서 이루어진다.<sup>51)</sup> 抗體의 Fc region과 結合하는 수용체를 가지고 있는 macrophage는 一般的으로 活性化되면 phagocytosis 機能이 亢進되며 細胞의 크기가 增加되고 여러 가지 細胞의 分泌液이 增加하게 된다. 本 研究에서 氣海 및 腎俞에 대한 人蔘藥鍼液의 投與가 macrophage의 數와 lysozyme의 機能을 增進시키는 것은(Fig. 2 및 Fig. 3) 이와 같은 機轉에 기인할 것으로 추

측되며 이에 대한 研究가 要望되어진다.

抗原提示細胞(antigen presenting cell, macrophage 포함)의 lysosome에서 분비되는 lysozyme(lysosomal enzyme으로 대표됨)은 exogenous antigen을 peptide로 分解하여 endoplasmic reticulum에서 합성되는 class II MHC와 결합하여 antigenic peptide-class II MHC complex를 형성하기도 하고, 抗原이 endogenous (virus 및 박테리아 감염 등)유래인 경우에는 class I MHC와 결합하여 antigenic peptide-class I MHC complex를 形成하여 各各 helper T 細胞와 cytotoxic T 細胞와 對應하도록 되어 있다.<sup>52)</sup> Lysozyme은 Micrococcus lysodeikticus의 細胞壁 構成成分인 N-acetylmuramyl-(1-4)- $\beta$ -linkages peptidoglycan을 分解시키는데 이 分解된 溶液의 吸光度를 利用하여 酵素活性을 測定할 수 있다. Lysozyme 活性 測定의 結果는 Fig. 3 에서 보는 바와 같이 人蔘藥鍼液을 氣海 및 腎俞에 投與한 群은 생리식염수 投與群에 比하여 反應時間이 길어짐에 따라 分解度가 增加되므로 lysozyme의 活性은 점진적으로 增加함을 알 수 있다. Macrophage내의 lysozyme의 活性이 增加된다는 것은 antigen presentation을 원활히 進行되도록 하여 抗原을 T 細胞가 빈번히 인지하도록 하는 것을 의미하므로 이러한 일련의 과정에 人蔘藥鍼液의 投與가 重要한 役割을 하는 것으로 생각되어진다.

또한 抗原으로 本 實驗에 使用한 MA(methamphetamine)는 分子量이 작은 hapten으로 면역원성이 매우 낮다고 알려져있어 여기에 소(牛)의 血漿 알부민(BSA)을 結合시킨 抗原 MA-BSA는 免疫增強 效果의 有無 檢査에 效果的으로 사용할 수 있다. 또한 plasma 細胞가 抗體를 생산하는 데에는 T 細胞의 도움을 받는 경우(T 細胞 依存性)와 T 細胞의 도움 없이 生産하는(T 細胞 非依存性)경우를 考慮하더라도 Fig. 1의 結果는 氣海 및 腎俞에 대한 人蔘藥鍼液의 投與로 glucocorticoid에 의해 抑制되었던



B 세포를 增殖시켜 抗體의 生成을 增加시키고 이로 因해 體液性免疫의 增加를 誘導시키는 同時에 T 細胞의 增殖도 促進시킴으로 細胞간의 液性因자의 分泌를 통해 B 細胞 分化를 誘導하고 抗體生成을 增加시킬 可能性을 强하게 示唆해 주고 있다. 以上을 綜合하면 本 實驗에서 氣海, 腎俞에 對한 人蔘藥鍼 處置로 因해 低下된 免疫機能의 回復을 觀察할 수 있었고, 이에 關한 具體的 機轉研究의 進行이 必要할 것으로 思料된다.

## V. 結 論

氣海와 腎俞의 人蔘藥鍼이 glucocorticoid에 依한 免疫機能低下에 미치는 影響을 觀察한 結果, 다음과 같은 成績을 얻었다.

1. 人蔘藥鍼이 hapten인 MA-HRP가 유도하는 抗體 生成能에 미치는 影響을 觀察한 結果, 對照群의 MA-HRP에 對한 抗體의 力價가 正常群에 비하여 유의성있게 減少하였다. 한편, 氣海群에서는 抗體의 生成이 對照群 보다도 다소 增加하였으나, 腎俞群에서는 正常群에 비하여 抗體의 생성이 큰 폭으로 增加함을 알 수 있었다. 그러나 任意穴群에서는 거의 正常群에 가까운 抗體의 力價가 나타났다.

2. Mouse의 腹腔內에서 分離한 macrophage數를 測定한 結果, 對照群은 正常群에 비하여 14% 減少하였다. 또한 氣海群 및 腎俞群에서는 각각 3.0배 및 2.9배로 macrophage의 數가 顯著하게 增加하였다.

3. 氣海群 및 腎俞群에서는 對照群에 비하여 lysozyme의 活性이 增加함으로 Micrococcus lysodeikticus의 菌 顯濁液의 分解가 빨라져 時間이 經過함에 따라, 反應液이 透明하게 되는 顯著한 變化를 觀察할 수 있었다.

以上과 같은 實驗 成績을 綜合해 볼 때 氣海 및 腎俞에 대한 人蔘藥鍼液의 投與로 glucocorticoid에 의해 抑制되었던 抗體의 역가와 macrophage의 數 및 lysozyme의 活性을 增加시킴으로써, 生體內에서 顯著한 免疫調節 機能을 나타내므로, 人蔘藥鍼의 免疫調節 效果에 關하여, 더욱 深度있는 研究가 必要하다고 思料되며, 따라서 本 實驗室에서는 이와 同一한 實驗條件에서 人蔘藥鍼이 細胞性 免疫機轉에 미치는 效果에 關한 研究를 계속 進行할 計劃이다.

## 參 考 文 獻

1. 王 琦 : 黃帝內經素問今釋. 서울 : 成輔社. 1983 : 8, 146, 412
2. 楊惟傑 : 黃帝內經素問靈樞譯解. 서울 : 成輔社. 1980 : 1, 13, 19, 266, 349, 381, 469, 546
3. 張介賓 : 類經. 서울 : 大星文化社. 1986 : 28, 34(上), 418(下)
4. 上海中醫學院 : 中草藥學. 香港 : 商務印書館. 1975 : 511-515
5. 未詳 : 神農本草經(孫星衍輯). 北京 : 人民衛生出版. 1982 : 12(卷1)
6. 許浚 : 東醫寶鑑. 서울 : 南山堂. 1987 : 720
7. 金定濟 : 最新鍼灸學. 서울 : 成輔社. 1979 : 405
8. 安榮基 : 經穴學叢書. 서울 : 成輔社. 1986 : 362, 363, 682, 683
9. 林鍾國 : 鍼灸治療學. 서울 : 集文堂. 1983 : 367, 492
10. 楊繼洲 : 校訂註解鍼灸大成. 서울 : 大成文化社. 1985 : 299-300, 350
11. 李經緯 : 鍼灸集成. 卷(3-4), 北京 : 北京市中國書店出版. 1986 : 54-55(卷3), 40-41 (卷4)
12. 楊甲三 : 鍼灸學. 北京 : 人民衛生出版. 1989 : 255
13. 李挺 : 國譯編註醫學入門. 서울 : 崇文社. 1974 : 320, 380, 467(卷2)

14. 世宗命撰：鄉藥集成方. 서울：여강출판사. 1991：25, 70(卷5)
15. 全國韓醫科大學校 鍼灸·經穴學教室：鍼灸學(上·下). 서울：集文堂. 1988：489, 490, 730, 1017, 1408
16. 中醫大辭典編輯委員會：韓方醫學大辭典. 서울：翰成社. 1984：84
17. 錢百炎：中草藥注射劑. 上海：上海科學技術出版社. 1981：71, 130
18. 金廷彦：奇蹟의 藥鍼療法. 서울：金剛出版社. 1987：15
19. 李淵台譯：最新免疫學. 서울：集文堂. 1982：33, 204, 215, 508
20. 李鍾訓：病原微生物學. 서울：壽文社. 1973：133-183
21. 金完熙, 崔達永：臟腑辨證論治. 서울：成輔社. 1985：46, 52, 412
22. 文溶典：東醫病理學(1). 서울：韓醫科大學病理學教室. 1896：127, 128
23. 劉建洪, 何冬梅：穴位藥物注射療法. 서울：醫聖堂. 1989：1-3
24. 具潤浦, 對中藥雙向調節作用的探討. 雲南中醫雜誌 1985；2：44-49
25. 李尙仁：本草學. 서울：修書院. 1981：51-54
26. 江蘇新醫學院編：中藥大辭典. 上海：上海科學技術出版社. 1978：29, 380, 2232, 2626
27. 宮斌：人蔘對細胞免疫功能的影響. 中草藥 1984；23-24
28. 崔景朝, 人蔘莖葉皂甙對功能的影響. 中草藥 1982；13(5)：29-31
29. 鄧文龍, 人蔘莖葉對網狀內皮系統食功能的影響. 中草藥 1985；220
30. 調鍾寬, 免疫에 關한 東洋醫學의 考察. 東洋醫學 1986；12(1)：19
31. 上海中醫學院篇：針灸學. 香港：商務印書館. 1974：211-216
32. 崔容泰, 李秀鎬：精解鍼灸學. 서울：杏林出版. 1985：384, 608
33. 趙爾康：中華針灸學. 北京：中國書店出版 1987：211-212, 370-372
34. 吳崑：鍼方六集校釋, 北京：中國醫藥科技出版社 1991：126
35. 金泰潤, 人蔘水鍼前處置가 發癌豫防에 미치는 影響. 대한한의학회지 1988；9(2)：3-44
36. 高敬錫, 人蔘水鍼이 MTX를 投與한 생쥐의 免疫反應에 미치는 影響. 慶熙韓醫 大論文集 1988；11：37-54
37. 李弼雄, 人蔘水鍼이 鎮痛 및 血壓에 미치는 影響. 慶熙大學校 碩士學位論文, 1984.
38. 盧宗植, 鹿茸 人蔘 鴨跖草 水鍼의 糖尿病에 對한 效果 및 免疫機能에 미치는 影響. 慶熙大學校 博士學位論文, 1988.
39. 金在圭, Ethanol 中毒에 對한 鍼, 灸 및 人蔘 水鍼이 解毒效果에 미치는 影響. 慶熙韓醫大論文集 1984；7：335-344
40. 河人有, 人蔘에 關한 細菌學 및 免疫學의 研究(第3報), 人蔘이 mouse의 免疫反應에 미치는 影響. 大韓免疫學會誌 1979；1：45
41. 韓龍男, 人蔘의 免疫增強效果에 關한 研究. 人蔘研究報告 1979：285-289
42. 高炳熙, 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 博士學位論文 1986.
43. 金聖洙, 人蔘 및 熟地黃이 Methotrexate로 誘發된 생쥐의 免疫反應低下에 미치는 影響. 慶熙大學校 碩士學位論文 1986.
44. 조규혁：인삼 Crude Saponin이 저하된 면역 반응 및 망내계 기능의 회복에 미치는 영향. 한국인삼연초연구소 1983：1-20
45. 金大洙, 鹿茸 人蔘 및 靈芝水鍼이 免疫反應에 미치는 影響. 慶熙大學校 博士學位論文, 1992.
46. 田中千架子, 加藤隆一：藥理學 改訂第2版：南江堂. 1994：483-509
47. 木下牧子, 橫張龍一：日本臨狀 46. 1988：137-142

48. Umeda, M., Igarasi, K., Nam, K.S. and Inoue, K. Effective production of monoclonal antibodies against phosphatidylserine : stereo-specific recognition of phosphatidylserine by monoclonal antibody. *J. Immunol.* 1989 ; 143 : 2273
49. Nam, K. S., Igarashi, K., Umeda, M. and Inoue, K. Production and characterization of monoclonal antibodies that specifically bind to phosphatidylcholine. *Biochim. Biophys. Acta* 1990 ; 1046 : 89
50. Smolelis, A.N. and Hartsell, S. E. The determination of lysozyme. *J. Microbiol.* 1949 ; 58 : 731
51. Peters, P. J., Neefies, J. J., Oorschot, V. Ploegh, H. L. and Geuze, H. J. Segregation of MHC class II molecules from MHC class I molecules in the golgi complex for transport to lysosomal compartments. *Nature* 1991 ; 349 : 669
52. Braciale, T. J. and Braciale, V. L. Antigen presentation : structural themes and functional variations. *Immunology Today* 1991 ; 12 : 124
53. Singh, V. K. Immunomodulatory activity of Panax Ginseng extract. *Planta med* 1984 ; 50(6) : 462-465
54. Yu, H. J. Immunomodulatory effects of Panax Ginseng C. A. Meyer in the mouse. *Agents and action* 1984 ; 15 : 386-391
55. Chong, S. K. F. : in vitro effect of Panax Ginseng on phytohaemagglutinin induced lymphocyte transformation, *Int. Arch. Allergy, Appl. Immunol* 1984 ; 73(3) : 216-220
56. Miroshnichenko, I. V. Vaarying effect of tonics on immune response *Khim-Farm Zh.* 1985 ; 19(2) : 139-142