

補兒湯이 림프구의 增殖能에 미치는 影響

The effect of *Boa-tang* to the lymphocytes.

林在國* · 洪茂昌* · 夏潤文**

1. 緒論

免疫^{6,8,9,12,16,20,22,27,33)}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들을 非自己인 抗原으로 認識하고 特異하게 反應하여 抗體를 生成하여 이를 除去하므로 그 自體의 恒常性を 維持하는 現象이다

韓醫學에서는 疾病發生을 <內經·素問 評熱病論¹⁾>에 “邪之所湊, 其氣必虛”라고 하였고, <內經·靈樞 百病始生篇¹⁷⁾>에서는 “風雨寒熱 不得虛邪不能獨傷人 卒然 逢疾風暴雨而不病者蓄無虛 故邪不能獨傷人”이라고 說明하였는데 이것은 體內正氣(抵抗力)가 虛하게 되면 外部의 病邪가 侵入하는 것이고, 또 具體적으로, <素問·刺法論^{6,13)}>에서는 “五疫之至 皆相染易無問大小 病狀相似 正氣存內 邪不可干”이라 하여 五疫에 感染되지 않는 것은 그 原因은 “正氣存內 邪不可干”이라 하였다. 正氣가 體內에 存在하고 있는 이상 病邪가 있더라도 侵入하지 못한다는 뜻으로, 즉 이는 生體의 正氣가 充實하게 되면 外邪가 侵入하거나, 內邪가 發動하더라도 미리 疾病을 豫防할 수 있을 뿐만 아니라 對處할 수 있는 것이다.¹⁹⁾

人體가 疾病을 일으키게 되는 것은 한편으로는 外邪가 쉽게 虛한 틈을 타서 侵入하게 되고, 한편으로는 內邪가 일어나 各種 疾病을 일으키게 되는 것이므로 病邪에 대한 抵抗力을 韓醫學에서는 正氣라고 한다.

正氣가 虛하다는 것은 人體構成要素인 精氣神 血의 弱화를 意味하며 그중 氣(衛氣) 血(營血)의 作用을 특히 指稱한다고 할 수 있다.^{17,64)}

韓醫學에서의 衛氣와 營血의 作用은 西洋醫學의 免疫機能과 類似하고, 正氣와 邪氣가 서로 다투는 것은 免疫反應과 類似하다. 따라서 衛氣의 防禦作用과 營血의 營養作用을 增強해 주면 人體 免疫力(림프구증식능력)이 增強되리라 思慮된다.

이와 관련된 實驗으로는 이, 최^{35,73,87,91)} 등은 補氣劑의 림프구 增殖能力에 人參이 效果가 있다고 報告하였고, 또 황¹⁰²⁾ 등은 地黃이 免疫增強을 한다고 하였다. 이등^{74,89)}은 黃芪, 白朮, 當歸, 枸杞子 등이 림프구 增殖能力이 있다고 하였다. 또 원⁶⁷⁾ 등은 氣血을 補하는 處方으로 去人蔘 地黃되어 있는 補兒湯으로 免疫關係物質의 生成促進 效果와 體液性 免疫 增強效果에 影響을 준다는 實驗的 보고^{44,67,85,1)}가 있었지만 림프구 증식에 관한 實驗 研究는 없었다.

이에 著者は 補兒湯⁴¹⁾을 選定하여 마우스의 脾臟細胞에 대한 림프구 增殖能과 사람 末梢血液의 림프구 增殖能力을 實驗 觀察한 바 다음과 같은 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

* : 경희대학교 한의과대학 생리학교실

** : 경희대학교 의과대학 미생물학교실

II. 實驗

1. 動物

동물은 8주-10주령이고, 체중 18-22g인 BALB/C 생쥐를 실험실 환경에 2주이상 적응시킨 후 실험에 사용한다. 적응기간과 실험기간중 고형사료(삼양유지, 한국)와 물을 자유롭게 섭취하도록 하였으며, 사육환경은 23±2℃, 상대습도 55-60%, 명암주기 12시간 (07:00~19:00)으로 조절하였다

2. 藥材

처방은 <경희의료원 원내처방집>에 수재된 補兒湯을 사용하였으며, 1첩의 분량은 다음과 같다.

補兒湯

| 약명 | 생약명 | 수량 |
|-----|------------------------------|-----|
| 黃芪 | Astragali Radix | 6.0 |
| 龍眼肉 | Longanae Arillus | 4.0 |
| 白朮 | Atractylodis Rhizoma alba | 4.0 |
| 當歸 | Angelicae gigantis Radix | 4.0 |
| 川芎 | Cnidii Rhizoma | 4.0 |
| 芍藥 | Paeoniae Radix | 4.0 |
| 白茯苓 | Hoelen | 4.0 |
| 陳皮 | Aurantii nobilis Pericarpium | 4.0 |
| 山藥 | Dioscoreae Radix | 4.0 |
| 枸杞子 | Lycii Fructus | 4.0 |
| 甘草 | Glycyrrhizae Radix | 4.0 |
| 白豆蔻 | Anom Cardamomi Fructus | 3.0 |
| 砂仁 | Anom Semen | 2.0 |
| 木香 | Holemi Radix | 2.0 |
| 益智仁 | Anom Aman Fructus | 1.0 |
| 生薑 | Zingiberis Rhizoma | 3권 |
| 大棗 | Zizyphi inerts Fructus | 2개 |

3. 액기스 조제

補兒湯 5첩 분량을 1500ml의 증류수에 넣고 전기약탕기로 2시간 가열 추출한 용액을 3겹으로 된 거즈에 통과시킨다. 그여액을 Rotary Evaporator에 농축시켜 -70℃에서 24시간 냉동시킨후, 냉동 건조기에서 72시간 건조시켜 얻은 분말(55g)을 실험에 사용하였다.

4. 마우스 비장세포 부유액

흰쥐의 복부를 알코올로 적신후 절개하여 비장을 적출하였다. 적출된 비장을 항생제 [antibiotic-antimycotic(Gibco, Grand Island, NY)]가 4%되게 가한 Hank's balanced salt solution(HBSS, Gibco, Grand Island, NY)로 2회 세척한 후, HBSS를 5ml 가한 직경 60mm 페트리 접시에 옮겼다. 옮긴 비장을 주사기 뒷 꼭지를 이용하여 비장세포를 유리시켰다. 이렇게 얻어진 비장세포를 시험관에 옮긴 후 5분간 정치시켜 조직편이 자연침강하면 현탁상태의 세포만을 15ml 원심용 시험관에 옮겨 원심분리기로 1,200rpm에 10분간 원심분리하였다. 혼입된 적혈구를 제거하기 위하여 Red blood cell lysing buffer(Sigma, U.S.A.)를 이용하여 용혈시키고, 10% Fetal Calf Serum (FCS, Gibco, Grand Island, NY)가 첨가된 RPMI 1640(Gibco, Grand Island, NY) 조직배양액에 항생제와 L-glutamine을 각각 1% 되게 가한 완전배양액으로 2회 원심분리하여 세척하였다. 세포를 2회 세척한후 trypan blue 염색법으로 림프구 수를 2.0×10^6 cells/ml 농도로 부유시켰다.

비장세포 부유액을 4개의 flat bottom 96well plate에 100μl씩 분주하고 여기에 적정농도의 시료를 가하였다. plate를 37℃, 5% CO₂ 배양기에서 배양하다가, 각각 2일 후, 3일 후, 4일 후, 5일 후에 하나씩 꺼내어 세포의 증식정도를 측정하였다.

5. 사람 말초혈액

20-25세의 건강한 성인남자의 전완에서 혈액을 멸균된 주사기로 채혈하였다.

6. 사람 말초혈액에서 림프구 분리

헤파린을 처리한 주사기로 10ml의 정맥혈을

채혈하여 원심분리기에서 혈청을 분리하였다. Buffy coat층을 조심스럽게 취한후 HBSS로 2배 희석시켰다. 비중 1.077의 histopaque(Sigma, U.S.A.) 5ml위에 희석된 혈액을 조심스럽게 중첩시키고 1500rpm에서 30분간 원심분리하였다. 원심분리가 끝나면 분리된 세포층이 흔들리지 않게 시험관을 조심스럽게 꺼내어 histopaque위에 분리된 림프구를 다른 시험관으로 옮겼다. 10% FCS가 첨가된 RPMI 1640 조직배양액에 항생제와 L-glutamine을 각각 1% 되게 가한 완전배양액으로 2회 원심분리하여 세척하였다. 세포를 2회 세척한후 trypan blue 염색법으로 림프구 수를 2.0×10^6 cells/ml 농도로 부유시켰다.

말초혈액 림프구 부유액을 4개의 flat bottom 96well plate에 $100\mu\text{l}$ 씩 분주하고 여기에 적정농도의 시료를 가한다. plate를 37°C , 5% CO_2 배양기에서 배양하다가, 각각 2일 후, 3일 후, 4일 후, 5일 후에 하나씩 꺼내어 세포의 증식정도를 측정하였다.

7. 배양 림프구의 증식측정

상기의 방법으로 well에 림프구를 분주하고 대조군으로는 concanavaline A $40\mu\text{g/ml}$ 을 가한 ConA40 군, $20\mu\text{g/ml}$ 을 가한 ConA20 군, $10\mu\text{g/ml}$ 을 가한 ConA10 군, $5\mu\text{g/ml}$ 을 가한 ConA5 군, $2.5\mu\text{g/ml}$ 을 가한 ConA2.5 군으로 나누어 실험하였고, 실험군으로는 補兒湯 $1000\mu\text{g/ml}$ 을 가한 BA1000 군, 補兒湯 $100\mu\text{g/ml}$ 을 가한 BA100 군, 補兒湯 $10\mu\text{g/ml}$ 을 가한 BA10 군, 補兒湯 $1\mu\text{g/ml}$ 을 가한 BA1 군, ConA $2.5\mu\text{g/ml}$ 과 補兒湯 $1000\mu\text{g/ml}$ 을 가한 CBA1000 군, ConA $2.5\mu\text{g/ml}$ 과 補兒湯 $100\mu\text{g/ml}$ 을 가한 CBA100 군, ConA $2.5\mu\text{g/ml}$ 과 補兒湯 $10\mu\text{g/ml}$ 을 가한 CBA10 군, ConA $2.5\mu\text{g/ml}$ 과 補兒湯 $1\mu\text{g/ml}$ 을 가한 CBA1 군, 어떤 약제도 첨가하지 않은 control 군으로 나누었다.

각 군을 각각 2일, 3일, 4일, 5일간 배양하고, 배양한 plate를 배양종료 4시간 전에 5mg/ml 의 3-[4,5-dimethylthiazol]-2,5-diphenyltetrazolium

bromide (MTT, sigma)를 $10\mu\text{l}$ 씩 첨가하여 formazan crystal이 생성되도록 하였다. formazan crystal이 생성된 plate에 0.01M HCl에 10% SDS를 녹인 용해액 $100\mu\text{l}$ 를 넣었다. plate를 배양기에 하룻밤 방치한 후 formazan crystal이 녹은 것을 확인하고 ELISA reader 540nm에서 흡광도를 측정하였다.

III. 성적

1. 마우스의 비장세포 림프구 증식능에 관한 실험 결과

1) MTT를 이용한 세포수의 표준 곡선

MTT를 이용한 세포수의 표준 곡선(standard curve)을 그리기 위해 8×10^6 cells/ml의 비장세포 부유액을 2배씩 단계별로 희석하여 흡광도를 측정하였다.

세포수가 8×10^6 cells/ml일 때 흡광도는 0.566 ± 0.06 이었고, 4×10^6 cells/ml에서는 0.347 ± 0.03 , 2×10^6 cells/ml에서는 0.230 ± 0.02 , 1×10^6 cells/ml에서는 0.162 ± 0.01 , 0.5×10^6 cells/ml에서는 0.117 ± 0.01 이었다.

Table 1. Optical density of mouse lymphocyte cell number

| cell number | O.D. |
|----------------------------|------------------|
| 8×10^6 cells/ml | 0.566 ± 0.06 |
| 4×10^6 cells/ml | 0.347 ± 0.03 |
| 2×10^6 cells/ml | 0.230 ± 0.02 |
| 1×10^6 cells/ml | 0.162 ± 0.01 |
| 0.5×10^6 cells/ml | 0.117 ± 0.01 |

O.D: optical density

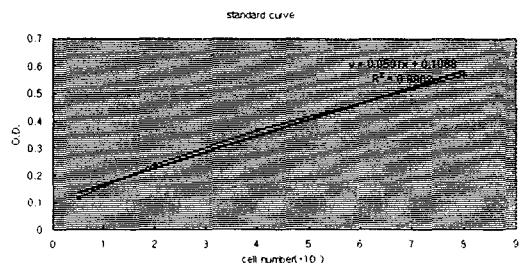


Figure 1. Standard curve of mouse lymphocyte cell number

2) 세포생존율 측정

마우스 비장세포 림프구의 생존율은 배양 초기에는 $97.73 \pm 1.19\%$ 였고, 배양 2일째에는 $54.76 \pm 5.11\%$, 3일째에는 $19.66 \pm 5.07\%$, 4일째에는 $7.07 \pm 4.46\%$ 였다.

Table 2. Cell viability of mouse lymphocyte

| | cell viability (%) |
|-----------|--------------------|
| start day | 97.73 ± 1.19 |
| 2nd day | 54.76 ± 5.11 |
| 3rd day | 19.66 ± 5.07 |
| 4th day | 7.07 ± 4.46 |

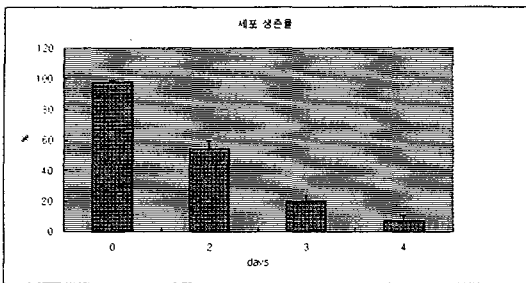


Figure 2. Cell viability of mouse lymphocyte

3) ConA 농도에 따른 세포의 증식능

양성 대조군으로 Concanavaline A(ConA)를 여러 가지 농도로 실험했을 때 비장세포 림프구의 증식능은 다음과 같았다.

먼저 대조군은 배양초기 흡광도가 0.238 ± 0.009 였고, 2일째는 0.187 ± 0.004 , 3일째는 0.143 ± 0.003 , 4일째는 0.129 ± 0.003 , 5일째는 0.109 ± 0.005 였다. ConA40 군은 배양 초기 흡광도가 0.240 ± 0.011 이었고, 2일째는 0.525 ± 0.014 , 3일째는 0.724 ± 0.010 , 4일째는 0.675 ± 0.016 , 5일째는 0.334 ± 0.026 로 대조군에 비해 유의성있는 증식반응이 인정되었다. ConA20 군에서도 2일째는 0.563 ± 0.010 , 3일째 0.799 ± 0.008 , 4일째 0.821 ± 0.007 , 5일째 0.363 ± 0.005 로 대조군에 비해 유의성있는 증식반응이 인정되었다. ConA10 군에서도 2일째 0.654 ± 0.016 , 3일째 0.977 ± 0.006 , 4일째 0.877 ± 0.013 , 5일째 0.486 ± 0.007 로 여러 가지 농도 중에서 가장 높은 증식능을 나타내었다.

ConA5 군은 2일째 0.477 ± 0.015 , 3일째 0.886 ± 0.005 , 4일째 0.897 ± 0.013 , 5일째 0.419 ± 0.005 로 대조군에 비해 유의성있는 증식반응이 인정되었다. ConA2.5 군은 2일째 0.460 ± 0.003 , 3일째 0.842 ± 0.017 , 4일째 0.885 ± 0.005 , 5일째 0.304 ± 0.003 로 대조군에 비해서 유의성있는 증식반응이 인정되었고 ConA5 군과는 큰 차이를 나타내지 않았다.

Table 3. Proliferation of mouse lymphocyte in response to ConA concentration

| Concentration ($\mu\text{g/ml}$) | 0 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| ConA 40 | 0.238 ± 0.009 | 0.525 ± 0.014 | 0.724 ± 0.010 | 0.676 ± 0.016 | 0.334 ± 0.026 |
| ConA 20 | 0.238 ± 0.009 | 0.562 ± 0.010 | 0.799 ± 0.008 | 0.821 ± 0.007 | 0.363 ± 0.005 |
| ConA 10 | 0.238 ± 0.009 | 0.655 ± 0.016 | 0.977 ± 0.006 | 0.877 ± 0.013 | 0.486 ± 0.007 |
| ConA 5 | 0.238 ± 0.009 | 0.477 ± 0.015 | 0.886 ± 0.005 | 0.897 ± 0.013 | 0.419 ± 0.005 |
| ConA 2.5 | 0.238 ± 0.009 | 0.460 ± 0.003 | 0.842 ± 0.017 | 0.885 ± 0.005 | 0.304 ± 0.003 |
| Control | 0.238 ± 0.009 | 0.187 ± 0.004 | 0.143 ± 0.003 | 0.129 ± 0.003 | 0.109 ± 0.005 |

ConA 40 : $40\mu\text{g/ml}$ of Concanavalin A was added to the culture medium
 ConA 20 : $40\mu\text{g/ml}$ of Concanavalin A was added to the culture medium
 ConA 10 : $40\mu\text{g/ml}$ of Concanavalin A was added to the culture medium
 ConA 5 : $40\mu\text{g/ml}$ of Concanavalin A was added to the culture medium
 ConA 2.5 : $40\mu\text{g/ml}$ of Concanavalin A was added to the culture medium
 Control : Nothing was treated

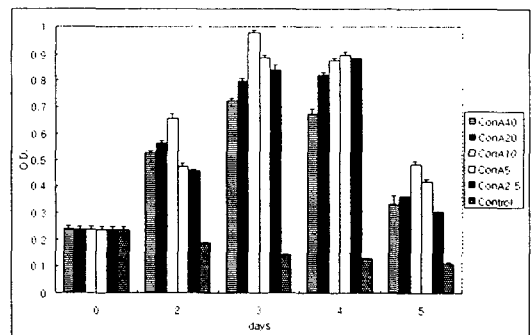


Figure 3. Proliferation of mouse lymphocyte in response to ConA concentration

ConA 40 : $40\mu\text{g/ml}$ of Concanavalin A was added to the culture medium
 ConA 20 : $40\mu\text{g/ml}$ of Concanavalin A was added to the culture medium
 ConA 10 : $40\mu\text{g/ml}$ of Concanavalin A was added to the culture medium

medium
 ConA 5 : 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Concanavalin A was added to the culture medium
 ConA 2.5: 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Concanavalin A was added to the culture medium
 Control : Nothing was treated

ConA2.5 : 2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Concanavalin A was added to the culture medium
 CBA 1000 : 2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Concanavalin A and 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Boa-tang was added to the culture medium
 CBA 100 : 2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Concanavalin A and 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Boa-tang was added to the culture medium
 CBA 10 : 2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Concanavalin A and 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Boa-tang was added to the culture medium
 CBA 1 : 2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Concanavalin A and 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Boa-tang was added to the culture medium

4) 補兒湯 농도에 따른 세포의 증식능

補兒湯의 첨가에 따른 마우스 비장세포 림프구의 증식능을 관찰한 결과, 補兒湯의 농도가 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 인 군에서 배양 3일째에 대조군에 비하여 증식되는 경향이 있었으나 통계학적 유의성은 관찰되지 않았다. 補兒湯의 농도별로 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 순으로 증식이 낮아지는 경향이 있었으며, 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도가 가장 낮은 증식능을 보였다.

림프구 분열촉진인자인 ConA 2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 을 補兒湯과 함께 첨가한 군에서는 補兒湯 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서 배양 2-3일째에 ConA 2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 군에 비해 유의성($p < 0.01$)있는 증가가 관찰되었으며, 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서도 배양 3일째 유의성($p < 0.01$)있는 증가가 관찰되었다. 그러나 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서는 증식능이 나타나지 않았다.(Table 4.)

Table 4. Proliferation of mouse lymphocyte in response to Boa-tang concentration

| Concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$) | 0 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| BA 1000 | 0.237 ± 0.014 | 0.153 ± 0.037 | 0.139 ± 0.035 | 0.104 ± 0.009 | 0.100 ± 0.011 |
| BA 100 | 0.237 ± 0.014 | 0.188 ± 0.034 | 0.171 ± 0.036 | 0.126 ± 0.021 | 0.113 ± 0.015 |
| BA 10 | 0.237 ± 0.014 | 0.188 ± 0.026 | 0.162 ± 0.045 | 0.121 ± 0.019 | 0.111 ± 0.014 |
| BA 1 | 0.237 ± 0.014 | 0.168 ± 0.029 | 0.147 ± 0.035 | 0.119 ± 0.021 | 0.108 ± 0.016 |
| control | 0.237 ± 0.014 | 0.188 ± 0.004 | 0.147 ± 0.005 | 0.131 ± 0.004 | 0.110 ± 0.004 |
| ConA 2.5 | 0.237 ± 0.014 | 0.460 ± 0.003 | 0.795 ± 0.007 | 0.863 ± 0.020 | 0.299 ± 0.008 |
| CBA 1000 | 0.237 ± 0.014 | 0.232 ± 0.077 | 0.197 ± 0.059 | 0.166 ± 0.038 | 0.119 ± 0.017 |
| CBA 100 | 0.237 ± 0.014 | 0.364 ± 0.051 | 0.699 ± 0.093 | 0.576 ± 0.108 | 0.302 ± 0.068 |
| CBA 10 | 0.237 ± 0.014 | 0.536 ± 0.017 | 0.886 ± 0.023 | 0.831 ± 0.065 | 0.375 ± 0.042 |
| CBA 1 | 0.237 ± 0.014 | 0.485 ± 0.033 | 0.917 ± 0.064 | 0.672 ± 0.100 | 0.334 ± 0.071 |

BA 1000: 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Boa-tang was added to the culture medium
 BA 100 : 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Boa-tang was added to the culture medium
 BA 10 : 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Boa-tang was added to the culture medium
 BA 1 : 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Boa-tang was added to the culture medium
 control : Nothing was treated

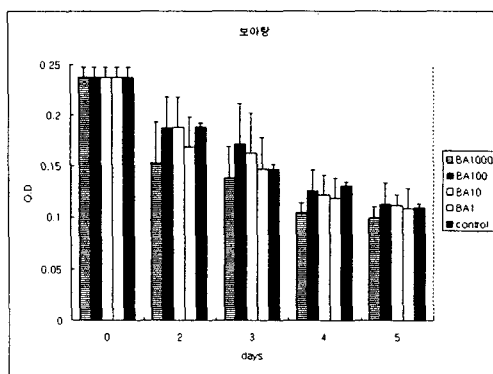


Figure 4. Proliferation of mouse lymphocyte in response to Boa-tang concentration

BA 1000 : 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Boa-tang was added to the culture medium
 BA 100 : 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Boa-tang was added to the culture medium
 BA 10 : 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Boa-tang was added to the culture medium
 BA 1 : 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Boa-tang was added to the culture medium
 control : Nothing was treated

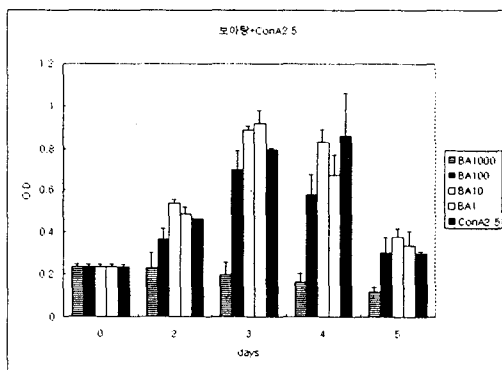


Figure 5. Proliferation of mouse lymphocyte in response to Boa-tang concentration and ConA 2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$

BA 1000 : 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Boa-tang was added to the culture medium
 BA 100 : 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Boa-tang was added to the culture medium
 BA 10 : 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Boa-tang was added to the culture medium
 BA 1 : 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Boa-tang was added to the culture medium
 ConA 2.5 : 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Concanavalin A was added to the culture medium

2. 사람 말초혈액의 림프구 증식능에 관한 실험 결과

1) MTT를 이용한 세포수의 표준 곡선

MTT를 이용한 세포수의 표준 곡선(standard curve)을 그리기 위해 8×10^6 cells/ml의 비장세포 부유액을 2배씩 단계별로 희석하여 흡광도를 측정하였다.

세포수가 8×10^6 cells/ml일 때 흡광도는 0.961 ± 0.047 이었고, 4×10^6 cells/ml에서는 0.581 ± 0.019 , 2×10^6 cells/ml에서는 0.381 ± 0.022 , 1×10^6 cells/ml에서는 0.245 ± 0.011 , 0.5×10^6 cells/ml에서는 0.142 ± 0.009 이었다.

Table 5. Optical density of human lymphocyte cell number

| cell number | O.D. |
|----------------------------|-------------------|
| 8×10^6 cells/ml | 0.961 ± 0.047 |
| 4×10^6 cells/ml | 0.581 ± 0.019 |
| 2×10^6 cells/ml | 0.381 ± 0.022 |
| 1×10^6 cells/ml | 0.245 ± 0.011 |
| 0.5×10^6 cells/ml | 0.142 ± 0.009 |

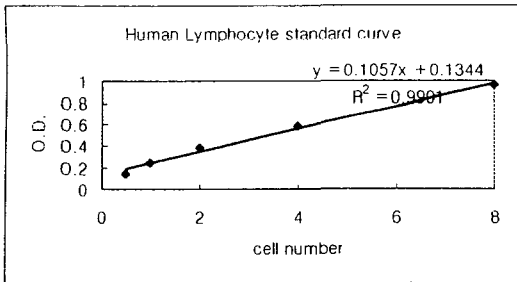


Figure 5. Standard curve of human lymphocyte cell number

2) 세포생존율 측정

사람 말초혈액 림프구의 생존율은 배양 초기에는 $97.62 \pm 1.36\%$ 였고, 배양 2일째에는 $82.94 \pm 5.11\%$, 3일째에는 $51.85 \pm 7.74\%$, 4일째에는 $42.17 \pm 6.30\%$, 5일째는 $12.68 \pm 3.97\%$ 로 마우스 비장세포 림프구에 비해 림프구의 생존율이 높은 것을 관찰할 수 있었다.

Table 6. Cell viability of human lymphocyte

| | cell viability (%) |
|-----------|--------------------|
| start day | 97.62 ± 1.36 |
| 2nd day | 82.94 ± 5.11 |
| 3rd day | 51.85 ± 7.74 |
| 4th day | 42.17 ± 6.30 |
| 5th day | 12.68 ± 3.97 |

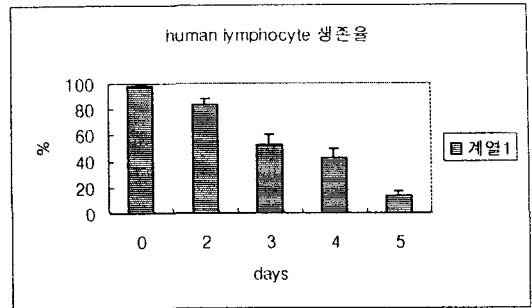


Figure 6. Cell viability of human lymphocyte

3) 補兒湯 농도에 따른 세포의 증식능

사람 말초혈액 림프구 배양에 補兒湯을 첨가하였을 때 여러 농도에서 림프구의 증식에 영향을 주는 것을 관찰할 수 있었다. 補兒湯의 농도가 $1000 \mu\text{g/ml}$ 인 경우에는 배양 2일째에는 림프구를 증식시켰으나 3일째부터는 대조군에 비해 증식능이 떨어졌다. $100 \mu\text{g/ml}$ 과 $10 \mu\text{g/ml}$ 의 농도에서는 배양 2일부터 5일까지 모두 대조군보다 좋은 유의성있는 증식능을 보였고, $1 \mu\text{g/ml}$ 의 농도에서는 대조군보다 더 증식하는 경향을 보였으나 2일째를 제외하고는 통계학적 유의성이 인정되지 않았다.

Table 7. Proliferation of human lymphocyte in response to Boatang concentration

| Concentration ($\mu\text{g/ml}$) | 0 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| BA 1000 | 0.388 ± 0.016 | 0.381 ± 0.015 | 0.277 ± 0.006 | 0.248 ± 0.011 | 0.102 ± 0.007 |
| BA 100 | 0.388 ± 0.016 | 0.380 ± 0.019 | 0.307 ± 0.008 | 0.277 ± 0.007 | 0.194 ± 0.008 |
| BA 10 | 0.388 ± 0.016 | 0.398 ± 0.019 | 0.298 ± 0.005 | 0.282 ± 0.007 | 0.213 ± 0.008 |
| BA 1 | 0.388 ± 0.016 | 0.386 ± 0.017 | 0.292 ± 0.012 | 0.268 ± 0.013 | 0.192 ± 0.009 |
| control | 0.388 ± 0.016 | 0.351 ± 0.005 | 0.275 ± 0.019 | 0.253 ± 0.016 | 0.184 ± 0.009 |
| ConA 2.5 | 0.388 ± 0.016 | 0.432 ± 0.007 | 0.485 ± 0.015 | 0.450 ± 0.027 | 0.397 ± 0.054 |

BA 1000 : $1000 \mu\text{g/ml}$ of Boa-tang was added to the culture medium
 BA 100 : $100 \mu\text{g/ml}$ of Boa-tang was added to the culture medium
 BA 10 : $10 \mu\text{g/ml}$ of Boa-tang was added to the culture medium
 BA 1 : $1 \mu\text{g/ml}$ of Boa-tang was added to the culture medium
 Con A 2.5 : $40 \mu\text{g/ml}$ of Concanavalin A was added to the culture medium

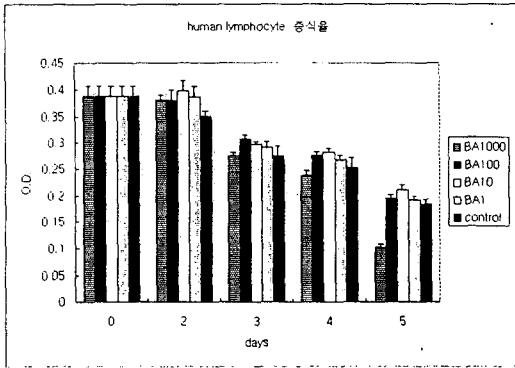


figure 7. Proliferation of human lymphocyte in response to Boatang concentration

BA 1000 : 1000 μ g/ml of Boa-tang was added to the culture medium
 BA 100 : 100 μ g/ml of Boa-tang was added to the culture medium
 BA 10 : 10 μ g/ml of Boa-tang was added to the culture medium
 BA 1 : 1 μ g/ml of Boa-tang was added to the culture medium
 Control : Nothing was treated

IV. 고찰

補兒湯⁴¹⁾은 虛勞 및 氣血 虛弱의 代表的인 處方인 十全大補湯^{1,11,53)}을 基礎로 한 處方으로 本方에서 熟地黃, 人參, 肉桂를 去하고 山藥, 枸杞子, 龍眼肉, 陳皮, 貢砂仁, 唐木香, 益智仁, 白豆蔻를 加한 處方이다.^{44,67,85)}

韓醫學은 疾病의 發生과 發展의 根本原因이 人體內部的 矛盾性에 있다고 보고, 外在環境의 各種 發病因子가 人體를 侵犯하는 것은 단지 發病的 條件이며 人體臟腑功能活動의 健運狀態와 人體自身에게 具備된 自然的 抗病能力 및 回復能力을 말하는 正氣의 強弱이 疾病發生發展의 根據이다.^{2,7)}

<內經^{10,13,14,17)} 通評虛實論>에 “邪氣盛則實, 正氣奪則虛”, 調經論에 “氣血以并 陰陽相傾 氣亂於衛, 血逆於經, 血氣離居, 一實一虛”라 하였다. 張馬¹⁷⁾에 의하면 邪氣란 風寒暑濕之邪이며 正氣란 營衛之氣라고 하였다. 營衛之氣란 人體의 生理機能을 말하며 營血과 衛氣로 나뉘는데 營血은 全身을 循行하면서 안으로는 五臟六腑에 밖으로는 皮肉筋骨에 이르러 全身에 營養을 供給하는 것이므로 皮毛, 筋骨, 經絡, 臟腑 등의 모든 組織器官은 모두 血液에 의해서 營養을 받는다. <難經>에서 “血主濡之”라고 한 것은 이 作用을 說明한

다. 全身의 各 部分은 모두 血에서 充分한 營養 供給을 얻어 各種 生理活動을 維持할 수 있도록 하니, <素問·五臟生成篇>의 “肝受血而能視, 足受血而能步, 掌受血而能握, 指受血而能攝”과 <靈樞·本藏篇>의 “血和則 筋骨勁強, 關節清利矣”가 이에 관한 說明이다. 따라서 血이 不足하여 濡養하는 作用을 잃어버리면 各 臟腑와 氣管들의 機能도 減退되고 疾病이 오게 된다. 즉 營血은 營養作用과 水液代謝 및 精神活動을 도우며 衛氣가 病邪에 對하여 對抗할 수 있도록 物質的 基礎를 提供하고 있다.^{1,3,4,7,64,100)} 衛氣는 靈樞 本藏篇에 “衛氣者, 所以溫分肉, 充皮膚, 肥腠理, 司開闔者也”, “衛氣和, 則分肉解利, 皮膚調柔, 腠理致密矣.”라 하였다. 여기에서 衛氣가 皮膚, 分肉사이에 循行하며 汗腺을 調節하고 皮膚粘膜을 保護하며 外邪에 對抗하는 作用이 있다는 것을 알 수 있다.^{1,3,4,7)}

<靈樞 刺節眞邪篇>에서 “虛邪入之於身也深,..... 有所結, 氣歸之..... 有所結, 深中骨, 氣因於骨.”이라 하였는데, 여기서 말한 虛는 正氣虛를 말한 것이며 衛氣虛의 뜻도 包含하고 있다. “有所結”은 邪氣가 侵入하여 正氣와 싸워 正邪가 함께 있는 것을 말한다. “氣歸之”한 正氣(衛氣, 營血)가 邪氣의 結集處로 가서 싸우지만, 正이 虛하여 邪氣를 이기지 못하고 邪氣가 骨에 머무는 것을 말하는데 正氣는 비록 패하였지만 시종 邪氣와 싸우게 된다.^{3,4,7,64,91)} 즉 衛氣는 그 性質이 慄疾滑利하여 皮膚四肢分肉之間을 循行하면서 病邪의 侵入을 막고 抵抗하며 體溫調節등의 防衛機能을 擔當한다.

正氣는 生命活動機能의 總和를 意味하며 正氣는 外部의 邪氣로부터 防禦抵抗하는 機能을 擔當한다. 邪氣란 모든 病因이 되는 因子를 指稱하고 六淫, 疫病, 毒素 등을 包含한다.^{1,2,4,6.)}

楊¹³⁾은 邪氣와 正氣와의 關係에 對하여 病邪가 人體內에 侵入하여 正氣의 힘이 公히 旺盛할 때는 實證狀態라 하고 正氣가 抵抗하지 못하고 虛弱해진 狀態를 虛證狀態라 하였다. 正邪相爭은 免疫反應과 類似하다.

西洋醫學에서의 免疫(immunity)^{6,8,9,12,16,20,22,27,33)}이란 한 個體가 自己(self)와 非自己(non-self)를 區別하는 모든 活動을 意味한다. 免疫에는 個體가 出生할 때부터 지니고 있는 것으로 個體에 害를 끼치는 物質이나 細菌등이 侵入하였을 경우 非特異的으로 反應을 일으켜 反應하는 先天性 免疫과 個體가 出生後 露出되는 異物質에 對한 特異的 反應을 일으켜 個體를 방어하는 後天性 免疫이 있다.^{8,9)} 免疫에 對한 概念이 初期에는 傳染性 疾患에 對한 防禦反應 즉 特定한 傳染性 疾患에 對하여 特異的인 抵抗性이 附與된 宿主의 能力을 意味하는 後天的 免疫을 重視했으나 점차 先天的 免疫도 重視하게 되었다. 특히 脊椎動物에서는 複雜한 免疫體系가 잘 發達되어 있는데, 重要한 役割을 擔當하는 것으로는 림프구(lymphocyte), 보체단백질(complementary protein), 식세포(phagocyte)등을 꼽을 수 있다. 보체단백질과 식세포는 非自己가 어떤 종류의 것이나에 無關하게 侵入한 抗原이 어떤 種類의 것이나에 따라 對應하는 程度가 다르므로 特異的(specific)인 反應을 보인다고 할 수 있다.

림프구들은 크게 B림프구(B-cell)와 T림프구(T-cell)로 나누어 볼 수 있다. 體液 속에 解離될 수 있는 防禦 要素인 抗體(antibody)를 가지고 抗原(antigen)의 侵入에 對抗하는 體液性 免疫은 B림프구가 주로 關與하며, 細胞自體가 抗原을 찾아서 攻擊하고 對應하는 細胞性 免疫은 T림프구가 주로 關與한다.

細胞性 免疫에는 주로 T림프구가 關與하며, T림프구는 표면표식자(surface marker)에 의하여 여러 類型으로 나누어 지며, 이중 중요한 것은 OKT₄양성인 helper T림프구(보조 T세포), Killer T림프구(킬러 T세포), OKT₈ 양성인 Supperssor T림프구(억제 T세포) 및 OK₁₀양성인 cytotoxic T림프구이다. 킬러 T림프구는 抗原에 의해 이미 攻擊받은 自己(self)細胞를 죽이는 役割을 한다. 보조 T림프구는 항원제시세포(antigen presenting cell, APC)의 도움을 받아 活性化되어 세포활성물질(cytokine)을 分泌하고, 세포활

성물질은 B림프구나 식세포등을 誘導하여 다음 段階의 防禦를 可能하게 하는 役割을 한다. 억제 T림프구는 免疫反應의 適切한 調節을 위해 必要하다.

體液性 免疫 效果를 評價하는 方法으로 生體內 血清抗體價測定法으로 凝集素價와 溶血素價를 測定하는데, 赤血球 凝集과 溶血反應은 減作抗原에 對한 特異抗體와 抗原과의 直接 또는 間接的인 反應으로 凝集 또는 溶血을 일으키는 現象이며, 抗原抗體反應을 쉽게 判讀 할수 있는 간편한 方法으로서 血中免疫抗體의 消長을 測定하는데 널리 利用되고 있다.

림프구 增殖反應은 림프구의 機能을 間接的으로 把握할 수 있는 方法의 하나로 利用되고 있는데, 이의 增殖은 림프구의 活性이나 數的 增加를 反映한다.

韓醫學에 있어서 免疫에 對한 概念은 四氣調神 大論에 “不治已病治未病”과 刺法論에 “五疫之至 皆相染易 無問大小 病狀相似 正氣存內 邪不可干”에서 疾病의 成立過程中에 生體의 抵抗性을 重要하게 여겼음을 알 수 있고, 그 關與因子를 正氣라고 하였다.⁶⁾

이로서 西洋醫學에서의 免疫力의 強弱과 韓醫學의 正氣의 虛實은 疾病의 發生과 進展에 重要한 影響을 미치는 因子로 認定할 수 있다.^{2,8)}

韓醫學에서 疾病發生時 治療法은 人體內의 陰陽氣血을 복돋우고 抗病力을 調節하고 相對平衡 狀態를 回復시키는 扶正培體法과 人體內外的 病理的 要所를 除去하는 祛邪法으로 分類할 수 있다. 扶正法은 健脾益氣, 養血益氣, 養血滋陰, 健脾補腎, 補腎溫陽..... 하는 藥物과 處方을 爲主로 하고, 祛邪法은 清熱解毒, 活血化瘀, 消腫止痛, 化痰祛濕, 軟堅散結.....하는 藥物과 處方을 爲主로 한다.^{6,41,70,73,90)}

補兒湯은 生體內에서 病原素에 대한 防禦作用과 生體의 恒常性을 維持하며 抵抗力을 增強시켜주는 扶正法의 代表적인 處方이라 할 수 있고 이러한 觀點에서 遲延性 過敏反應과 脾臟細胞의 로젤형성세포수, 綿羊赤血球에 대한 赤血球 凝集素

價 및 溶血素價를 實驗的으로 研究한 論文⁶⁷⁾에서도 補兒湯의 效能이 인정되었다.

이에 著者는 림프구의 增殖能에 미치는 影響을 살펴보고자 하였다.

本 實驗에서는 마우스의 脾臟細胞와 사람의 末梢血液 림프구를 利用하여 補兒湯이 림프구의 增殖能에 미치는 結果를 觀察하였는데 觀察 方法으로는 5mg/ml의 3-[4,5-dimethylthiazol]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT)를 使用하여 吸光度를 測定하였다. 그동안 細胞의 增殖能을 測定하는 方法으로 放射性 同位元素인 3H-thymidine을 많이 利用하였다. 그러나 最近 MTT 를 利用하여 細胞의 生存을 및 增殖率을 測定한 實驗이 많이 報告되고 있다. MTT는 살아있는 細胞의 代謝作用에 의해 formazan crystal을 形成하는데 이것을 UV로 測定하여 簡便하게 細胞의 增殖反應을 測定할 수 있다. MTT 로 測定하는 方法은 放射性 同位元素를 使用하는 方法에 비해 安全하고 正確하며 比較的 細胞數가 적은 것도 測定할 수 있으며 multiwell-ELISA reader를 使用하므로 많은 샘플을 빨리 測定할 수 있는 長點이 있다.

本 實驗에서도 마우스 脾臟과 사람 末梢血液 림프구의 細胞數 標準曲線에서 R2의 값이 0.99이상으로 良好한 直線性을 나타내었으며, Con A^{23,2629,30,31,52,95,)}로 림프구의 增殖能을 實驗하였을 때 增殖程度가 잘 比較되었다.

마우스의 脾臟 림프구의 增殖能에 對한 補兒湯의 效能은 補兒湯 自體만으로도 增殖能에 效果가 있었으나 統計的 有意性은 없었다. 또한 對照群에 비해 별 差異를 나타내지 않으므로 細胞毒性도 없는 것으로 생각된다. 그러나 Con A와 함께 培養한 경우에는 補兒湯의 濃도가 낮은 경우 (CBA10, CBA1)에 Con A만 添加하여 培養한 군보다 높은 增殖能을 나타내었다.

試料의 濃도에 있어서 마우스의 경우 既存에 發表되었던 研究^{37,54,70,75,)} 들은 試料의 濃도가 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 등)以上에서 實驗을 하여 T림프구의 增殖能을 觀察하였으나,

최^{34,91)} 등은 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이하(0.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 0.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$)에서 T림프구 增殖 效果가 있다고 發表하였다. 이 實驗에서도 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 T림프구 增殖效果가 좋게 나온 것으로 보아 마우스의 경우 저 濃度에서 림프구 增殖效果가 있으리라 思慮된다.

사람 末梢血液의 림프구의 경우에는 補兒湯 自體만으로도 增殖能을 나타내었는데 이것은 마우스와 사람이라는 種의 차이에 의한 것이라고 생각되고, 사람의 경우 마우스 보다는 高濃度(1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)에서도 T림프구 增殖效果가 있었다.

림프구 培養 期間(時間)은 마우스의 경우 이등은 黃芪, 白朮, 補氣劑는 2일째(48시간)에 脾臟細胞에 대한 림프구 增殖效果가 뛰어나고 72시간째에 最高潮로 達한다고 하였고, 當歸, 枸杞子 등 補血劑는 3일째(72시간)에 脾臟細胞에 對한 림프구 增殖效果가 最高로 나타나고 4일째부터 減少한다고 하였다. 또 既存의 論文들은 細胞를^{48,56,69,87,91)}, 7237,70,74,75)시간 培養한 후 림프구 增殖效果를 觀察하였으나 림프구가 많이 生存했을 때 T림프구 增殖效果가 크다는 事實에 강, 최^{35,91)} 등이 림프구 培養時間을 T림프구가 많이 生存해 있는 48시간 以內로 하여 實驗을 進行하였으나, 이 實驗의 T림프구 增殖에서는 약간의 差異가 있었다. 하지만 강^{35,101)} 등이 培養時間變化에 따라 림프구증식을 觀察해야 한다는 主張은 意義가 있었다. 向後 24시간, 36시간, 48시간, 60시간, 72시간 등으로 12시간 단위로 實驗을 觀察하여야 된다고 思慮된다. 사람의 경우 림프구의 生存期間이 마우스보다 길었고, T림프구의 增殖도 2일에서 5일째까지 效果가 나타났다.

많은 論文에서 면역력 향상과 T림프구 增殖效果가 補氣劑(四君子湯, 補中益氣湯等)^{35,37,39,47,54,68,70,73,75,76,91,98,115,117,123)}와 補氣血劑(十全大補湯, 歸脾湯, 清心補血湯等)^{40,47,49,53,57,63,71,103,)} 및 補陰劑(六味地黃湯, 四六湯等)^{45,62,75,76)}가 뛰어나다고 發表되었고, 특히 人參^{36,38,42,43,50,62,66,69,81,91,93,99,101,116,120,121,122)}과 地黃^{38,46,102)}이

효과가 뚜렷이 나타난다고 하였다. 그러나 本 實 驗에서 去 人參, 地黃한 補兒湯에서도 T림프구 增殖效果가 있었다. 즉 補兒湯과 補氣血劑類, 補氣劑類 및 補陰劑類를 2일째(48시간)와 3일째(72시간) 림프구 增殖能을 比較해 보면 림프구 增殖效果가 거의 같거나 오히려 有意性이 增加 된 것은 앞으로 더욱 研究해야 될 課題라고 생각한다.

또 이^{50,54,74)} 등이 枸杞子^{50,74)}, 白朮^{50,74)}, 黃芪^{65,82,89,105,124)}, 當歸^{45,65,74,79,82,104)}가 T림프구 增殖效果가 뛰어나다고 發表한 것과 진^{58,60,65,89,105,124)} 등이 黃芪가 免疫機能을 向上시킨다는 研究와 無關하지 않으리라 思慮된다. 하지만 補兒湯이 이⁷⁴⁾ 등이 發表한 高濃度의 單味劑(1,000 μ g/ml, 500 μ g/ml)만 으로의 效果보다 림프구 增殖 效果가 적은 것은 藥材들의 補瀉關係, 歸經등 여러 가지 原因들이 있으리라 생각되며 앞으로 이에 對하여 더욱 研究가 있어야 될 것으로 생각된다. 向後 韓藥材를 이용하여 림프구 增殖能과 免疫機能向上에 미치는 影響에 관한 實驗을 進行할 때 試料의 適正濃度, 細胞培養時間 등에 대하여 보다 正確한 T림프구 培養條件과 免疫機能 向上에 對한 資料蓄積이 要求되고, 多樣한 藥材와 處方으로 實驗의 研究가 隨行되었으면 한다.

V. 결론

補兒湯을 選定하여 마우스의 脾臟細胞에 대한 림프구 增殖能과 사람 末梢血液의 림프구 增殖能力을 實驗 觀察한 바 다음과 같은 有意한 結果를 얻었다.

1. 마우스의 비장 림프구의 경우, 보아탕만 첨가한 군에서는 배양 3일째 보아탕 100 μ g/ml의 농도에서 대조군보다 증식하는 경향을 보였으나 유의성은 인정되지 않았다.

2. 마우스의 비장 림프구 배양액에 Con A 2.5 μ g/ml과 보아탕 10 μ g/ml을 함께 첨가한 혼합군에서 배양 2일과 3일째에 Con A 2.5 μ g/ml군에 비해 유의성 있는 증식효과가 있었으며 Con A 2.5

μ g/ml와 보아탕 1 μ g/ml를 첨가한 군에서도 배양 3일째에 유의성 있는 증식효과를 관찰하였다.

3. 사람 말초혈액 림프구의 경우, 보아탕 100 μ g/ml, 10 μ g/ml을 첨가한 군에서 배양 2일부터 5일까지 모두 대조군보다 유의성 있는 증식효과를 나타냈으며 보아탕 1000 μ g/ml를 투여한 군에서는 배양 2일째와 5일째에 유의성 있는 증식효과를 나타냈으며, 1 μ g/ml를 첨가한 군에서도 2일째에 유의성 있는 증식효과를 관찰하였다.

이상의 결과에서 마우스는 저농도에서 증식효능이 인정되었고 사람에서는 보다 높은 농도에서 유의성 있는 증식을 보여주었다.

= Abstract =

The effect of Boa-tang to the lymphocytes.

Im. Jae-Gook* · Hong, Moo-Chang* · Ha, Yoon-Moon**

* Dept. of Physiology, College of Oriental Medicine, Kyung-Hee University, Seoul, Korea
** Dept. of Microbiology, College of Medicine, Kyung-Hee University, Seoul, Korea

By inserting *Boa-tang* into culture median of lymphocytes from spleen of rat and lymphocytes in human peripheral blood

The results were as follow.

1. In case of spleen lymphocytes of rat, cultures of lymphocytes did not significantly increased which were inserted *Boa-tang* 100 μ g/ml, and which were inserted 10 μ g/ml at 3rd day

2. In case of spleen lymphocytes of rat, cultures of lymphocytes were significantly increased which were inserted *Boa-tang* 10 μ g/ml with Con A 2.5 μ g/ml at 2nd, 3rd day, and *Boa-tang* 1 μ g/ml with ConA 2.5 μ g/ml at 3rd day than inserted ConA 2.5 μ g/ml

3. In case of lymphocytes in human peripheral blood, cultures of lymphocytes were significantly increased which were inserted *Boa-tang* 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ at 2nd day to 5th day, and which were inserted *Boa-tang* 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ at 2nd day to 5th day, and which were inserted 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ at 2nd day

By looking at the following results, in case of rat cultures of lymphocytes were significantly increased which were inserted the lower density, but in case of human cultures of lymphocytes were significantly increased which were inserted the higher density.

參考文獻

1. 김완희 홍무장 외 : 한의학원론, 서울,성보사, pp125~133 1982.
2. 김완희, 김광중 : 한의학의 형성과 체계, 서울 중문출판사, pp 194~ 195. 1990.
3. 김완희,최달영 : 장부변증논치. p49~62, 66~70. 성보사. 1985.
4. 金完熙,洪茂昌외 10인 : 東醫生理學 .p81~102. p103~108. 1993.
5. 경희대 : 한방기본 처방집 3집 p76, 경희의료원 한방병원.
6. 낙화생 : 면역과 한방, pp19~48, 열린 책들,1992.
7. 문준전,안규석,최승훈:동의병리학.p295~310. 병리학교실.
8. 서울대학교 의과대학 : 면역학, 서울대학교 출판부, pp303~311, 337~344, 345~351. 1992.
9. 서울대학교 의과대학 : 종양학, 서울대학교 출판부,pp1~3, 137~143, 225~234, 1992.
10. 송혜향, 이홍준 : 의학실험계획법, 자유문화사, 서울, 1995.
11. 신재용 : 방약합편해설, 전통의학 p40, p58 1993.
12. 양운통 : 황제내경유석, pp171~173, 1986.
13. 양유걸 : 황제내경소문, 서울, 성보사, pp235, 1980.
14. 왕기 외 : 황제내경소문금석: 성보사. 1983.
15. 왕빙 주 : 황제내경,서울,고문사, p76 1975.
16. 이광응외 편역: 생명과학의 이해, pp407~420, 을유문화사,1997.
17. 장은암,마원대 : 황제내경소문, 서울, 성보사, p125 1978.
18. 전국한의과대학 본초학교실 공편:본초학. 영림사. 1991.
19. 진사택 : 석실비록,서울, 행림서원. p164, 1973.
20. Abul. K. Abbas et. : Cellular and Molecular Immunology, W.B. Saunders Company, Philadelphia, U.S.A, p 252,1994
21. Berke,G. : Functions and mechanisms of lysis induced by cytotoxic T lymphocytes and natural killer cells. In Fundamental Immunology(W .E .Paul,ed.) pp.735-764. Raven Press, New York, 1989
22. Charies A.Janeway,Jr,Paul Travers, 'Immunobiology',pp4:1~49. Current Biology Ltd,1994.
23. Dwyer J.M. et al, 'The use of concanavalin A to study the immunoregulation of human T cells', clim. Exp. Immunol, 46: 237, 1981
24. E. Charlse Snow : Handbook of B and T Lymphocytes, Academic Press, California, U.S.A., p220 - 222, p224, 1994
25. Feit, C. Bartal, A. H. Tauber, G., Dymbort, G.,and Hirsha ut, Y.1983. An enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)for the detection of monoclonal antibodies recognizing antigens expressed on viable cells. J. Immunol. Methods 58:301-308.
26. Gullberg, M. and Larsson, E.L.: Studies on induction and effector functions of concanavalin A-induced suppressor cells that limit TCGF production, J. Immunol., 128 : 746,
27. Ivan Roitt, 'Essential Immunology'(8th ed), pp95~102, Blackwell, 1994.
28. John E. Coligan 외 : Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, Inc., U.S.A., p3.1.1 - 3.4.3., p6.3.1. -6.3.11, p3.11.1

- 3.11.10, 1994.
29. Palmer A.R. et al, 'cadminu-113 nuclear magnetic resonance investigation of metal binding sites in concanavalin A', *Biochemistry* 19: 5063, 1980
30. Ramirez F. et al. : Glucocorticoids enhance concanavalin A-induced mitogenic response through the inhibition of nitric oxide production, *Immunology* 90:66, 1997
31. The Merch Index(11th ed), pp389-390, Merch & co., inc., 1989
32. William E. Paul : *Fundamental Immunology*, Raven Press, New York, U.S.A., p470, 1993.
33. Zhao K.S.et al : Enhancement of the immune response in mice by Astragalus membranaceus extracts.', *Immunopharm.* 20:225 1990.
34. 강운호, 김병운, 하운문, 박재강, 남상운, 최규철, 최용점 : 수종위 생약에 대한 항암효과의 실험적 연구(백서의 자연살해세포활성에 미치는 영향), *대한생약학회지* Vol 18.No2, 1987.
35. 강재훈, 홍무창, 하운문 : 보중익기탕이 면역세포 배양에 미치는 영향 경희 대학교 대학원 동서 의학 협동과정, 석사학위 논문집, 1992.
36. 고경석 : 인삼수침이 Methotho trexate를 투여한 생쥐의 면역반응에 대한 영향, *경희한의대 논문집*, Vol 11, PP. 37-54, 1988
37. 고광석: 격하축어탕과 격하축어탕 합 사군자탕의 항암 및 면역조절작용에 관한 실험적 연구, *경희대학교 박사학위논문*, 1994
38. 고병희 : 녹용, 숙지황, 인삼, 오가피가 면역반응 및 NK세포활성도에 미치는 영향, *경희대학교 박사학위논문*, 1986
39. 고병희 외: 소음인 보중익기탕과 후세방 보중익기탕이 양허병증에 미치는 영향, *사상의학회지*, Vol. 7, No. 2, PP. 213-226, 1995
40. 고영권, 류봉하, 박동원, 류기원: 십전대보탕이 CD4+ 및 CD8+ T세포수에 미치는 영향, *대한방종양학회지*, Vol. 4, No. 1, PP. 111-130, 1998
41. 김영성 외 : 어성초 및 상국음이 면역기능에 미치는 영향. *대한 한의학회지*. Vol.3, No. 1995.
42. 김대수: 녹용, 인삼 및 영지약침이 면역반응에 미치는 영향, *경희대학원 박사학위논문*, 1992
43. 김대수: 삼종의 제법에 따른 인삼수침이 Methotrexate를 투여한 생쥐의 면역반응에 미치는 영향, *경희의학*, Vol 5, No.1, PP97-105, 1989
44. 김덕곤 : 식욕부진을 호소하는 외래환자에 대한 보아산 투여의 임상적 효과, *서울, 소아과학술 집담회지*, 1981. 1:17.
45. 김덕호 : 귀룽탕이 면역기능에 미치는 실험적 연구, *대한한의학회지*, 6:2, P.P 55-63
46. 김성수 : 인삼 및 숙지황이 methotrexate로 유발된 생쥐의 면역반응 저하에 미치는 영향, *경희대학교 대학원 석사학위논문*, 1986
47. 김성훈 : 사군자탕, 사물탕 및 팔물탕이 prednisolene으로 유발된 생쥐의 면역반응저하에 미치는 영향, *경희대학교 대학원 박사학위 논문*, 1987
48. 김수기 외 : 종주에 따른 마우스 비장 세포의 시험관내 Interlukin-2 생성능 비교. *대한 면역학회지* 9(2): pp 223~232, 1987.
49. 김재섭 : 십전대보탕액기스가 생쥐의 세포성 및 체액성 면역반응에 미치는 영향, *원광대학교 대학원*, 1984
50. 나영걸 : 백출과 구기자가 생쥐의 세포성 및 체액성면역반응에 미치는 영향, *경희대학교 대학원 석사학위논문*, 1987
51. 남상운, 하운문, 최용목 : LAK(Lymphokine-Activated killer)세포의 활성화를 위한 적정 배양조건의 수립.*Korea J. of Immunology* Vol.8, No 2,November,1986.
52. 남상운,하운문,최용목 : 마우스 T세포 증식인자 (Interiukin -2)에 의한 마우스 T림프구의 장기 배양 및 특성.*J.korea Soc. Microbiol* ,Vol 21,No.1, 1986.
53. 류봉하, 황규동, 박동원, 류기원: 십전대보탕, 와송 및 십전대보탕 가 와송이 항암효과와 면역반응에 관한 연구, *대한한방종양학회지*, Vol. 2,

- No.1, PP. 177-194, 1996
54. 박건구, 최승훈, 정세영: 수종한약처방이 암전이 억제효능에 관한 연구, 97보건의료기술개발연구발표회의 과학분과초록, 서울, 1997
 55. 박동원, 류봉하, 전병욱, 류기원: 소음인 보중익기탕과 와송이 항암 및 면역반응에 미치는 영향, 대한한의사협회 제18회 전국한의학학술대회 논문집, PP. 46-72, 1996
 56. 박세기, 류봉하, 박동원, 류기원 : 청심보혈탕의 항암 및 면역증강효과에 관한 실험적 연구, 대한한방내과학회지, Vol. 19, No.1, pp. 221-241, 1998
 57. 박은진 : 귀비탕과 귀비탕가감방이 마우호의 과민반응 및 면역세포의 기능에 미치는 영향, 대한한의학회지, Vol 11, No2, PP 149-169, 1990
 58. 박진웅 외: 농도차에 따른 황기 약침이 Methotrexate를 투여한 생쥐의 면역반응에 미치는 영향, 대한침구학회지, Vol 11, No. 1, PP 67-81, 1994
 59. 박형주, 김금재, 하대유 : 종양마우스 비장세포의 IL-2 생산과 마이토젠으로 유도한 세포증식반응.Korean J.Immunol.16:331~338. 1994.
 60. 배원영: 황기약침이 Methotrexate를 투여한 생쥐의 면역반응에 미치는 영향, 대한침구학회지, Vol 11, No 1, PP -66, 1994
 61. 배정엽 : 소아보혈탕, 가미소아보혈탕 및 가미소아보혈탕이 생쥐의 면역반응에 미치는 영향, 경희대학교 대학원 박사학위논문, 1989
 62. 소경순 : 녹삼지황탕이 항노쇠에 미치는 영향, 경희한의대 논문집, Vol 18, No 2, PP 127-159, 1995
 63. 송병기 외: 소음인, 십전대보탕과 국방 십전대보탕이 양허병증에 미치는 영향, 사상의학회지, Vol. 7, No. 1, 1995
 64. 엄 동명 : 영위에 대한 고찰, 경희대학교, 서울, 1996.
 65. 오민철 : 황기 및 당귀의 면역증강효과에 관한 연구, 서울, 경희한의대 논문집, Vol. 9, PP. 343-354, 1986
 66. 오용성 외 : 수치에 따른 3종의 인삼이 면역반응에 미치는 영향, 경희의학, 3:!, 1987
 67. 원종훈, 김덕곤, 정규만 : 보아탕이 면역반응에 미치는 실험적연구. 경희대학교 석사학위논문집 .
 68. 유경태, 문석재, 문구, 원진희: 군리탕가감방이 항종양면역반응과 항암제로 유발한 부작용에 미치는 영향, 대한한방종양학회지, Vol. 4, No. 1, PP. 71-88, 1998
 69. 윤동학, 이해정: 인삼의 3종약침 제법이 방사선 피폭에 의한 면역기능 저하에 미치는 영향, 경희한의대 논문집, Vol. 18, No. 1, PP. 31-43, 1995
 70. 윤상협 : 육군자탕,소시호탕,어성초의 담암생쥐의 생존기간 연장 효과와 면역반응에 관한 실험연구, 경희의학, 7(3):pp342~357, 1991.
 71. 윤재호, 최승훈, 안규석: 십전대보탕이 암전이 억제에 미치는 영향, 대한한방종양학회지, Vol. 4, No. 1, PP. 131-146, 1998
 72. 윤정구, 김경원, 이미리나, 박상진 : 마우스 항종양주효세포의 생성과 새울학적 특성.J.Korean Soc, Microbial, Vol 24, No.3, 1989.
 73. 이남구 : 사군자탕이 생쥐의 면역반응 및 NK세포의 독성에 미치는 영향, 대한 한의학회지, 10(2): 115~122, 1989.
 74. 이능기, 최승훈, 안규석: 수종 한약제가 생쥐의 골수 및 비장세포의 조혈존진과 방사선 방어에 미치는 영향, 대한한방종양학회지 vol.3, NO.1, 1997
 75. 이능기, 최승훈: 방사선 조사후의 NiGP(S) mouse 비장세포 증식에 미치는 보중익기탕과 사육탕의 효과, 대한한방종양학회지, 제2권 제1권, PP. 91-100, 1996
 76. 이병렬: 사군자탕 및 사물탕 약침이 면역반응에 미치는 영향, 대한한의학회지, Vol 18, No. 1, PP. 357-374, 1997
 77. 이봉기 등 : IL-2 의존성 사람, T 림프구의 장기배양과 그 특성, 대한 면역학회지, 8(2):117~125, 1986.
 78. 이성래: 녹혈생화탕이 마우스의 면역반응에 미치는 영향, 경희한의대 논문, Vol 14, PP.

- 85-130, 1991
79. 이수림, 장준복, 이경섭, 송병기: 사물탕중 당귀를 주제로 한 상호작용에 관한 연구, 경희한의대 논문집, Vol. 20, No. 2, 1997
80. 이운대 : 최신면역학, 서울, 집문당, pp 33~35, 204, 215, 58. 1985.
81. 이은공 외 : 인삼약침이 glucocorticoid투여 Mouse의 면역반응에 미치는 영향, 대한한의학회지, Vol 18, No 1, PP 326-336, 1997
82. 이주봉 : 당귀약침 및 황기약침이 CCl₄에 의한 간손상의 회복효과에 관한 실험적 연구, 원광대학교 대학원, 1994
83. 이형주, 전병훈, 원진희, 문구, 문재호 : 십전대보탕 가미방이 항암화학요법제의 세포독성 및 종양세포의 lysosomal enzymes에 미치는 영향, 대한한방내과학회지, Vol 19, No. 1, pp. 491-503, 1998
84. 임규양: 사군자탕 추출액에 가토의 체액성 면역반응에 미치는 영향, 원광대, 1987
85. 정규만 : 십전대보탕 가감방인 보아탕이 성장기 Rat의 체중에 미치는 영향에 관한 실험적 연구, 경희대학원 석사학위 논문, 1997.
86. 정민호, 김현우, 오양효 : Mouse에서의 Transfer Factor의 활성화와 Lymphocyte 증식반응에 미치는 영향. J. Korean Soc. Microbiol., Vol. 25, No.4, 1990. No. 1, May, 1988
87. 조영걸, 김영봉, 최병선, 조양자, 서인수, 신영오 : HIV 감염자에 대한 홍삼의 T세포증강효과. J.Korean.Soc.Microbiol, Vol.29, No.4, 1994.
88. 조중관 : 면역에 관한 동양의학적 고찰. 서울, 동양의학, 1985., 1978.
89. 진선두 : 황기의 투여가 생체 및 시험관 내에서 면역세포의 기능에 미치는 영향, 원광대학교, 1995.
90. 채우석 : 면역질환의 한방개념과 치료에 관한 문헌적 고찰, 대한 한의학회지, 11(2):54~91, 1990.
91. 최기순, 하운문, 김광호 : 사군자탕이 림프구 활성화에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 동서의학 협동과정 석사논문집. 1998.
92. 최용, 최영길, 김정묵, 정용훈, 김경희, 한왕수 : Interlukin- α 및 - γ 가 IL-2로 유도된 Lymphokine-activated killer 세포활성에 미치는 영향. J.Korean soc.Microbiol. Vol.27, No.4, 1992.
93. 하대유 외 : 인삼에 관한 세포학 및 면역학적연구(제3보), 인삼이 mouse의 면역반응에 미치는 영향, 대한면역학회지, 1:1, P.P 45-52, 1979
94. 하운문 외 : T cell hybridoma를 이용한 IL-2의 생산과 면역요법을 위한 실험동물 모델에 관한 연구, 대한면역학회지 10:33, 1988.
95. 하운문 외 : 림프구 배양 상청액이 림프구 분열 증식에 미치는 영향에 관한 연구, 대한의학협회지, 26:237, 1983.
96. 하운문, 남상윤, 박재경, 최용묵 : 사람 림포카인 활성화 킬러(Lymphokine- activated killer) 세포의 유도를 위한 IL-2의 생산. J. Korea.Soc Microbial. Vol.24, No 1,1989.
97. 하운문, 박재경, 남상윤, 박수영, 최용묵 : Tcell Hybridoma를 이용한 IL-2의 생산과 면역요법을 위한 실험동물 모델에 관한 연구.Korean J. of Immunology.10(1) May,1988.
98. 한성규, 최승훈, 안규식: 보중익기탕, 수점산 및 보중익기탕 합 수점산의 항암과 면역조절작용에 관한 실험적 연구, 경희한의대 논문집, Vol. 18, No. 1, PP. 15-29, 1995
99. 한용남 : 인삼의 면역증강효과에 관한 연구, 인삼연구보는 P.P 285-294, 1979
100. 홍무창 외 : 사물탕 투여가 가견의 적혈구상에 미치는 영향에 관한 연구, 경희 대학교
101. 황경애: 인삼 및 녹용수침의 시간경과에 따른 면역효과 연구, 경희학회지, Vol. 4, No. 2, PP. 150-157, 1988
102. 황영명 외 : 수침에 따른 3종의 지황이 면역반응에 미치는 영향, 경희한의대 논문집, Vol 10: PP.207-218, 1987
103. 황충연 : 십전대보탕 녹용이 마우스의 면역반응에 미치는 영향, 1989
104. 황현숙: 농도별 당귀약침이 방사선 피폭에 의한 면역기능저하에 미치는 영향, 대한침구학회

- 지, Vol.11, No.1, PP 113-130, 1994
105. 경장산: 황기적면역약리연구진진, 중서의결합잡지, Vol. 6, No. 1, PP. 62-64, 1986
106. 곽송운 외 : 52례 원발성 폐암합병흡수적 임상 분석. 상해중의학잡지 10:8~9, 1989.
107. 궁문식 : 인삼대세포면역공능영향, 중초약, pp. 23-24, 1984
108. 왕용보 외 : 위압적 변증시치 상해, 상해중의학잡지 10:6~7.1987.
109. 육인존 등 : 종유연구, 상해, 상해과학 기술 출판사, pp1~22, 41~44, 95~133. 1991.
110. Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih, Dec;10(12):712-6, 707, 1990 (황기)
111. Gillis S.and Smith, K.A. : Long term cultuer of tumor-specific cytotoxic T cells, Nature, 268: 154~156, 1978.
112. Gillis, S, Baker, P.E.,Ruscetti F.W. and smith,K.A. : Long term culture of human antigen-specific cytotoxicity T-cell lines, J.Exp.Med. 148: 1093, 1981.
113. Ho LJ, Chang DM, Chang ML, Kuo SY, Lai JH : Mechanism of immunosuppression of the antirheumatic herb TWHf in human T cells., J Rheumatol; 26(1):14-24, 1999 Jan
114. Ho LJ, Chang DM, Lee TC, Chang ML, Lai JH : Plant alkaloid tetrandrine downregulates protein kinase, Eur J Pharmacol, 19:367(2-3):389-98, 1999 Feb
115. Kaneko M, Kishihara K, Kawakita T, Nakamura T, Takimoto H, Nomoto K : Suppression of IgE production in mice treated with a traditional Chinese medicine, bu-zhong-yi-qi-tang (Japanese name: hochu-ekki-to). Immunopharmacology ;36(1):79-85, 1997 Apr
116. Kim KH, et al. : Planta Med. 1998 Mar;64(2):110-5.
117. Li QL. [Effect of "si jun zi tang" on nucleic acid contents of the thymus gland and T lymphocytes in the peripheral circulation. Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih. ;4(6):366-7. Chinese. 1984 Jun
118. Mori H, et al. : Immunological mechanisms of antitumor activity of some kinds of Chinese herbs: Meth A-induced delayed type hypersensitivity. Jpn J Pharmacol. Sep;48(1):37-46. 1988
119. Nagasaka K, Kurokawa M, Imakita M, Terasawa K, Shiraki K : Efficacy of kakkon-to, a traditional herb medicine, in herpes simplex virus type 1 infection in mice., J Med Virol ;46(1):28-34, 1995 May
120. Song ZJ, et al. Ginseng treatment enhances bacterial clearance and decreases lung pathology in athymic rats with chronic P. aeruginosa pneumonia., APMIS. ; 105(6):438-44. 1997 Jun
121. Srisurapanon S, et al. : The effect of standardized ginseng extract on peripheral blood leukocytes and lymphocyte subsets: a preliminary study in young health adults., J Med Assoc Thai.; 80 Suppl 1:S81-5. 1997 Sep
122. Xiaoguang C, et al. : J Ethnopharmacol. Feb;60(1):71-8. 1998
123. Yamaoka Y, Kawakita T, Kishihara K, Nomoto K: Effect of a traditional Chinese medicine, Bu-zhong-yi-qi-tang on the protection against an oral infection with Listeria monocytogenes., 1982
124. Immunopharmacology : 39(3), pp215-23, 1998.