

鹿茸추출액과 露劑의 세포증식 및 면역활성도 비교 연구

김광중* · 안상우¹ · 송효인

대구한의대학교 한의과대학 생리학교실, 1: 한국한의학연구원

Comparison Study on the Cell Increase and Immunity Activation Degree in The extracted liquid of Cervus Elaphus Xanthopgus and It's Distilled Liquid

Kwang Joong Kim*, Sang Woo Ahn¹, Hyo In Song

Department of Oriental Medicine Graduate School Daegu Haany University, 1: Korea Institute of Oriental Medicine

In order to searched for the ways of use for distilled liquid of Cervus Elaphus Xanthopgus, the study examined the difference of immunological efficiency generally raised in the existing extracted liquid and distilled liquid of Cervus Elaphus Xanthopgus. As seen from the above results, both the extracted liquid of Cervus Elaphus Xanthopgus and distilled liquid have remarkable efficiency in the increase of cells, the efficient condition of immunity activation degree, the effect of anti-cancer possibly formed by these two and activation of cells and organism, in which distilled liquid in the beginning and the extracted liquid later tend to show its efficiency.

Key words : Distilled liquid, Cervus Elaphus Xanthopgus, immunological efficiency

서 론

근대 의학의 발달로 질병을 다스리는 많은 치료방법이 개발되었고 인류의 생명도 연장되었다. 그러나 아직은 해결되지 못한 건강관리상의 문제가 많이 남아 있어 우리 주위에는 드러나지 않은 반건강인이 흔히 볼 수 있고, 이들의 문제에 대한 해결방안을 한의학이나 한약을 통해 신체내의 자연치료력에서 찾고자 하는 노력이 다각도로 이루어지고 있다.

한의학에 있어서의 주된 치료원칙과 건강관리방향은 주로 病을 유발시키는 여러 인자인 邪氣와 건강을 유지하고자 하는 正氣와의 관계에서 邪氣를 없애주고 正氣를 복돋아 주는 데 역점을 둔다고 요약할 수 있다.^{1,3)} 正氣란 抗病능력을 총칭하는 것으로 인체 각 장부조직기관의 기능, 외계환경에 대한 적응력, 發病要素에 대한 저항력 등이라 볼 수 있는데 이는 현대적인 의미로 파악해 볼 때自己和非自己의 관계에서 균형을 찾아보려는 면역이론^{4,5)}과 매우 밀접한 관계가 있다 생각하여 한의학과 서양의

학이론과의 연계성에 많이 거론되고 있다. 이러한 사고를 바탕으로 여러 학자들이 正氣를 補해 주는 여러 약재 즉 補養藥에 속하는 여러 약물에서 면역기능 증강효과를 실험적으로 검토하여 유의한 결과가 있음을 보고^{6,12)}한 바가 있다.

본 실험에서 다루고자 하는 補養藥으로서 鹿茸의 경우는 면역학적 보고로 간기능의 활성화 및 호르몬대사, 백혈구의 증가 그리고 임파세포의 전화작용을 촉진하여 면역촉진제, 세포성 면역 및 액체성면역반응을 증강시키는 작용과 NK세포의 활성을 증강시키는 작용이 있다는 보고^{4,5,12-16)}되어 있다. 또 이를 기초로 강장작용, 생장발육촉진작용, 조혈작용, 신경쇠약치료작용, 오장육부의 기능향진작용 등 다양한 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 사회 일반에서는 대표적인 건강관리의 보약으로 녹용을 넣은 보약 처방을 露劑로 사용하고 있다. 그러나 현재 이와 같은 사용방법 외에도 소아의 복용상 애로를 개선하기 위해 단독으로 露劑로 만들어 사용하기도 하고 근래에는 대중화를 위해 露劑의 녹용차로 활용하는 등의 기존의 제형과 다른 형태로 사용하고 있다. 이렇듯 현실적인 효용성과 대중적인 이용에도 불구하고 학계에서는 露劑에 대한 약물효용 평가가 제대로 이루어지지 않았으며, 임상상 사용기준이 마련되지 않은 실정이다.

한약은 제형마다 각기 특성상 장단점이 있으며 의사는 病精

* 교신저자 : 김광중, 대구시 수성구 상동 165, 대구한의대학교 한의과대학
· E-mail : kwangj@dhu.ac.kr, · Tel : 053-770-2238
· 접수 : 2003/11/13 · 수정 : 2003/12/15 · 채택 : 2004/01/12

의 수요에 따라 서로 다른 제형을 적절하게 채워야 한다. 이에 저자는 기존의 鹿茸 추출액(湯劑)과 露劑를 대상으로 일반적으로 제기되는 면역학적인 효능상태의 차이를 검토함으로써 鹿茸을 비롯한 약물의 제형변화에 따른 효율적인 약물사용의 지표를 얻고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

1) 실험동물

실험동물은 대한실험동물센터에서 특정병원체무재(specific pathogen free) Balb/c생쥐와, 국립보건원에서 분양받은 8-10주령의 ICR계 생쥐를 실험동물 사육장에서 폴리카보네이트 사육상자(18×20cm)당 6개체의 밀도를 유지하며 사용한다. 이들 생쥐는 2주일간 실온에서 물과 사료를 충분히 공급하고, 낮과 밤의 주기를 12시간씩 조절하면서 가능한 스트레스를 받지 않도록 사육하면서, 8-12주 사이의 생쥐를 실험에 사용한다.

2) 시료

실험에 사용한 鹿茸은 경산대학교 부속대구한방병원 약제과에서 良質의 것을 엄선하여 사용하였다.

실험에 사용한 鹿茸

韓藥名	生藥名	學名
鹿茸	<i>Cervi Pantotrichum Cornu</i>	<i>Cervus elaphus L.</i>

3) 試藥 및 器具

세포배양에 필요한 RPMI 1640, 항생제(antibiotic-antimycotic), FCS(fetal calf serum)는 Gibco BRL(USA) 제품을 사용하였으며, 2-ME (2-mercaptoethanol), sodium bicarbonate(NaHCO₃), N-1 naphthyl-ethylen-diamine와 Sulfanilamide는 Sigma(USA) 제품을 사용하였다. 또한 세포증식을 측정하는데 사용한 시약(Cell titer 96® Aqueous One Solution Cell proliferation Assay)와 세포독성을 측정하는데 사용한 시약(Cyto Tox 96® Non-radioactive Cytotoxicity Assay)은 Promega(USA) 제품을 사용하였고, cytokine 측정에 필요한 항체와 세포표면 단백질 분자를 염색하는 kit항체는 Pharmingen(USA) 제품을 사용하였다.¹⁷⁾

2. 실험방법

1) 검액의 제조

실험에 사용할 시료는 한국산 鹿茸(*Cervus elaphus L.*)절편을 경산대학교 부속대구한방병원 약제과에서 제공받아 추출액과 露劑를 조제하여 사용하였다. 추출액은 鹿茸100g을 증류수 1,000 ml에 3시간 가열 추출 여과(3M filter paper)한 후, 여과액을 rotary vacuum evaporator에서 50ml될 때까지 감압농축하였다. 露劑는 증류법의 원리를 이용하여 얻었다. 먼저 鹿茸추출액을 환류냉각장치 상에서 끓이면 증류액이 냉각관 잠치를 통과 응축시켜 露劑를 얻었다. 이렇게 얻은 露劑는 -70℃ deep freezer에서 4

시간 동안 방치하고, 24시간 freeze dryer로 동결건조하여 실험에 사용할 때는 鹿茸100g의 추출액에서 얻은 露劑용액을 최종 50ml의 부피가 되도록 조정하여 사용하였다.

2) 검액의 투여

동물실험은 생쥐 6마리를 1군으로 하여 대조군(Control, 이하; CON), 鹿茸추출액실험군(Aqueous Extract of Cervus Elaphus Xanthopgus, 이하; EEX), 鹿茸露劑실험군(Aqueous Distillation of Cervus Elaphus Xanthopgus, 이하; DEX)으로 나누고 대조군은 1.0ml saline solution/day/mouse를 경구투여하였고, 실험군 EEX1은 상기방법으로 제조한 鹿茸추출액 1.0ml/day/mouse, 실험군 EEX2는 실험군 EEX1의 10배 희석액 1.0ml/day/mouse을 경구투여하였다. 실험군 DEX1은 상기방법으로 제조한 鹿茸露劑 1.0ml/day/mouse, 실험군 DEX2는 실험군 DEX1의 10배 희석액 1.0ml/day/mouse를 경구투여하였다.

세포단위의 실험에서는 상기 각각의 용액을 0.45µm 여과막을 통과시켜 필요량에 따라 주입 활성도 측정에 사용하였다.

3) 비장세포 분리

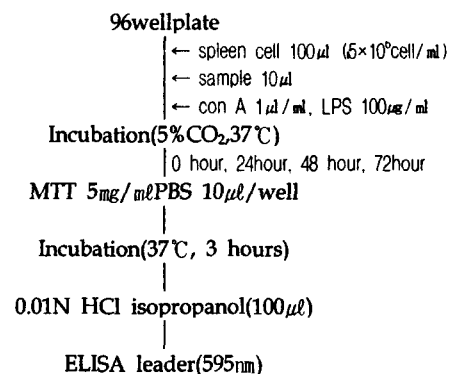
면역세포의 증식에 미치는 효과를 측정하기 위하여 생쥐의 비장세포를 이용하였다. 먼저 생쥐의 비장을 분리한 다음, 핀셋이나 매쉬를 이용하여 단일세포 부유액을 만들었다. 단일세포 부유액을 RPMI1640 배양액으로 3회 세척한 다음, 5×10⁶ cells/ml 농도가 되게 희석한 후 세포증식 활성능, 면역기능 활성능 등의 실험에 사용하였다.

4) 복강내 침출세포(Peritoneal exudative cells, PEC) 조제

Mouse의 복강에 주사기를 이용하여 PBS를 주입하고 맞사지 한 후, 복강세포를 채취하였다. 채취한 세포부유액을 원심분리(1500rpm, 10min)하여 상층액을 제거하고 RPMI 1640으로 3회 세척(1500rpm, 10min)하여 세포수를 조정하여, 탐식능을 측정하였다.

5) 세포활성능 측정

(1) MTT법에 의한 생세포 증식 측정



Scheme 2. Measurement of MTT activity

MTT법은 담황색의 bromo3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-terazoliu,; Thiazolyl blue시약이 생세포에 의해서 환원되어서 생성된 암흑색의 색소량을 측정하는 것으로서, 약제가 세포증식 측정을 검정하는 방법으로 10% Fetal Bovine Serum

함유하는 RPMI-1640 배지에 비장세포(1×10^5 cell/ml/ml)을 96 Well Plate에 접종하고 각각의 시료를 $10 \mu\text{l}$ 씩 첨가해서 배양한다. 각각의 시간대에 세포수를 측정하여 세포의 증식속진 유무 혹은 정도를 검정했다. 37°C 에서 24시간, 48시간, 72시간 배양한 후, PBS(Phosphate buffer solution)로 5mg/ml 되도록 용해한 MTT 시약을 각 well에 $10 \mu\text{l}$ 을 가했다. ELISA-leader로 595nm의 흡광도를 측정하여 시료에 의한 세포의 증식효과를 측정했다.

(2) 3H-thymidine에 의한 DNA 증식측정

① 세포 부유액 조제 : BALB/C mouse로 부터 비장, 흉선, lymph node를 적출하여, RPMI-1640 배지중에서 100 mesh망으로 분쇄하여 단세포 부유액을 만들었다. 이 부유액을 RPMI-1640 배지로 3회 세척후, hemocytometer로 cell의 수를 세고, completed RPMI-10 medium(10% FBS 함유 RPMI-1640에 2mM L-glutamine, $50 \mu\text{M}$ 2-Mercaptoethanol이 함유된 medium)으로 $2 \times 10^6/\text{ml}$ 의 농도로 조제하였다.

② Mitogen 용액의 조제 : ConA와 LPS를 RPMI-1640배지에 각각 용해($100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 씩의 용액)하여, 여과 멸균하고 이 액을 completed RPMI-10 medium으로 희석하여 사용한다.

③ 96 well microplate위에 적당한 농도로 희석된 시료를 각 well에 $50 \mu\text{l}$ 씩 넣는다. 계속, 비세포 부유액을 $50 \mu\text{l}$ 씩 가하고 배지, Con.A, LPS용액을 각각 3well씩 첨가한 후, 5% CO_2 incubator에서 37°C , 48시간 배양한다. 배양 마지막 4시간전에 각각의 well에 3H-thymidine를 $0.5 \mu\text{Ci}$ 씩 가한다. 세포 barvester를 이용하여 세포를 흡입여과 하고, Glass filter paper위에 세포를 떨어뜨리고, 10분간 건조후 액체 scintillation counter를 이용하여 방사선 양을 측정하였다. 이 cells중에 들어 있는 3H-thymidine의 양으로부터 세포의 증식정도를 측정하였다.

6) 면역기능 활성화

(1) 비장세포의 사이토카인 생성능 측정

각종 사이토카인 농도 측정은 ELISA법을 이용하였다. 즉, flate-bottomed microwell plate에 goat anti-mouse cytokine 1차 항체를 coating buffer를 이용하여 4°C 에서 overnight incubation 한 후, 3% BSA용액으로 2시간 동안 상온에서 blocking하였다. 실험에서 채취한 배양 상층액을, plate에 각각 넣어서, 37°C 에서 2시간 incubation시킨 후, biotinylated anti-cytokine 2차 항체를 첨가하였다. 그리고, avidin-conjugated alkaline phosphate를 적당량 가하고, 37°C 에서 2시간 incubation시키고, 기질로 p-nitrophenyl phosphate를 넣은 후 Microplate reader로 410nm 와 450nm에서 흡광도를 측정하여 standard curve를 이용하여 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 환산하여 나타내었다.¹⁹⁾

(2) 자연살해세포 활성 측정

생쥐의 자연살해세포에 감수성이 예민한 YAC-1 세포를 자연살해세포(Natural Killer cells) 활성 측정에 사용하였다. 실험 재료를 적정량 물에 녹여서 일정한 시간동안 투여한 실험군 생쥐의 복부를 절개하여 비장을 적출하여 세포 부유액을 만들었다. 세포 부유액을 mesh로 거른 다음 Ficoll-paque를 사용하여 400g 로 원심 분리시켜서 단핵 세포층을 얻었다. 단핵세포를 PBS로 3회 세척하여 혈구계산관을 사용하여 5×10^5 개 또는 1×10^6 개의 세

포로 조정하여 자연살해세포 활성도 측정에 사용하였다. YAC-1 표적(target)세포와, 분리한 단핵세포인 효과(effector)세포의 비율을 5 : 1 또는 10 : 1로 하여 round bottom plate에 final volum이 $100 \mu\text{l}$ 가 되게 넣고 4°C , 250g에서 5분간 원심침전한 후 37°C , 5% CO_2 incubator에 6시간 배양하였다. 배양시간이 6시간이 되기 45분전에 target maximum과 volum correcting control에는 lysis buffer를 첨가하여 세포의 용해도가 최대가 되도록 하였다. 배양 후에 4°C , 250g에서 5분간 원심 침전시킨 후 상층액 $50 \mu\text{l}$ 를 떠서 flat bootom 96well plate에 옮기고 여기에 $50 \mu\text{l}$ 의 substrate mix buffer를 첨가하여 실온에서 알루미늄 호일을 덮어 30분간 반응시키고 stop solution을 $50 \mu\text{l}$ 넣고 Microplate reader로 490nm에서 O.D.값을 측정하여 상층액 내에 있는 lactate dehydrogenase (LDH)의 양을 측정하여 살세포 활성 정도를 나타내었다. 살세포 활성 정도는 다음의 식을 이용하여 산출하였다.²⁰⁾

$$\% \text{ Cytotoxicity} = \frac{\text{Effector Spontaneous} - \text{Target Spontaneous}}{\text{Target Maximum} - \text{Target Spontaneous}} \times 100$$

(3) Plaque Forming Cell(PFC) 검출

항체 생산 세포의 검색은 Cunningham방법²¹⁾에 의하여, 약 물투여는 10일간 행하고 6일째에 SRBC를 1×10^8 cells/ml이 되도록 조정하여 생쥐의 복강에 0.2ml 주사하였다. 4일 후 비장을 적출하여 세포 부유액으로 만들어 3회 세척 후, 1×10^6 cell/ml이 되도록 조정된 비장세포 $200 \mu\text{l}$ 와 10% SRBC $36 \mu\text{l}$, complement 21 μl , 그리고 5% FCS-HBSS액 $143 \mu\text{l}$ 를 혼합하여, 제작한 Cunningham chamber에 넣어 37°C incubator에서 1시간 배양하면 항체생산세포 주위에 적혈구가 용해된 투명한 용혈반(plaque)이 생성된다. 이때의 용혈반수를 세어 항체 생산 세포수를 산정하였다.

(4) Rosette Forming Cell(RFC)의 검출

비장세포의 Rosette형성세포의 검출은 "Method in immunology"²²⁾에서 기술한 방법에 따라 행하였다. 즉, 비장세포 부유액(2×10^7 cell/ml) $200 \mu\text{l}$ 와 1% SRBC 부유액 $200 \mu\text{l}$ 를 시험관에 넣고 혼합하여 1,700rpm에서 원심 분리한 후, 이것을 다시 부유시켜 혈구계산관에 주입하여 RFC를 검경 관찰하였다. 현미경 상에서 비장세포에 SRBC가 3개 이상 부착한 세포를 RFC로 판정하여 다음 공식에 준하여 계산하였다.

$$\begin{aligned} \text{RFC/ml in rosette mixture/Viability} \times 10 \\ = \text{RFC}/10^6 \text{ viable nucleated cells} \end{aligned}$$

7) 탐식능 측정

탐식능 측정은 小松²³⁾등의 방법에 따라 행하였다. CP부유액(8×10^3 cell/ml) $50 \mu\text{l}$ 와 복강의 식세포 부유액(8×10^4 cell/ml) $50 \mu\text{l}$, 그리고 5% 동계 mouse 혈청 $100 \mu\text{l}$ 를 V-bottomed microtitre tray에 주입하여 CO_2 incubator (37°C , 5% CO_2)에서 3시간 배양하였다. 배양 후 그중 $50 \mu\text{l}$ 를 취해서 Sabouraud's dextrose agar 배지에 옮겨 35°C 에서 2일간 배양하여 살아있는 Candida Parapsilosis(이하CP) colony수를 세어 식세포에 의해 탐식된 CP의 생균수를 표시하였다.

성 적

1. 세포증식에 미치는 영향

1) MTT반응에 의한 세포증식결과

비장세포의 증식반응을 알아보기 위하여, 분리한 비장세포를 well 당 5×10^6 개씩 넣고 실험재료를 첨가하여 0시간, 24시간, 48시간, 72시간 배양하여 증식정도를 비교하였다. 그 결과는 Table 1과 같다. 鹿茸추출액은 48시간대에서 가장 높은 활성을 나타내었으나, 露劑는 24시간대에 가장 높은 활성을 보인 후 시간이 경과함에 따라 활성도가 떨어졌다. 鹿茸추출액 원액이 10배 희석한 용액에 비해 높은 활성을 나타냈고, 露劑에 있어서도 露劑원액이 10배 희석한 액에 비해서 대체로 높게 나타났다.

Table 1. Proliferation of BALB/c spleen cells by aqueous extract of Cervus Elaphus Xanthopgus or aqueous distillation of Cervus Elaphus Xanthopgus

Group	Proliferation of BALB/c spleen cells(505nm)			
	0 hour	24 hour	48 hour	72 hour
CON	0.18±0.06	0.18±0.06	0.18±0.06	0.18±0.06
EEX1	0.18±0.06	0.80±0.06	1.20±0.10	1.00±0.14
EEX2	0.18±0.06	0.60±0.07	0.80±0.08	0.60±0.12
DEX1	0.18±0.06	1.00±0.09	0.60±0.08	0.60±0.10
DEX2	0.18±0.06	0.80±0.09	0.50±0.03	0.40±0.07

Spleen cells were cultured with aqueous extract of Cervus Elaphus Xanthopgus or aqueous distillation of Cervus Elaphus Xanthopgus for 24hour, 48hour, 72hour in 96 mice culture plate. Proliferation was determined by MTT assay. Resulted s represented as OD 505nm. CON: control. EEX1: Aqueous Extract of Cervus Elaphus Xanthopgus. EEX2: Aqueous Extract of Cervus Elaphus Xanthopgus, 10time dilution. DEX1: Aqueous Distillation of Cervus Elaphus Xanthopgus. DEX2: Aqueous Distillation of Cervus Elaphus Xanthopgus, 10time dilution.

2) DNA합성에 미치는 영향

Mitogen활성은 비장세포 배양을 통해서 DNA합성으로 0.5 μ l:트리튬티미딘(3 H-TdR)의 증식세포 측정으로 수행되었다. 배양 24시간, 48시간, 72시간에 걸쳐서 측정한 결과는 Table 2와 같다. 鹿茸의 추출액은 72시간 까지 지속적으로 DNA의 합성을 촉진하여 세포의 증식이 계속되고 있음을 확인할 수가 있었다. 그러나 露劑는 24시간대에 최대의 합성속도를 보인 후 시간이 경과함에 따라 합성속도가 감소하고 있음을 보였다.

Table 2. Mitogenic activity of BALB/c spleen cells by aqueous extract of Cervus Elaphus Xanthopgus or aqueous distillation of Cervus Elaphus Xanthopgus

Group	Inocorporation of 3 H-TdR($\times 10^4$ cpm)			
	0 hour	24 hour	48 hour	70 hour
CON	4.2±0.2	4.2±0.2	4.2±0.2	4.2±0.2
EEX1	4.2±0.2	6.0±0.2	8.1±0.3	9.8±0.3
EEX2	4.2±0.2	5.0±0.5	6.9±0.5	7.0±0.3
DEX1	4.2±0.2	9.0±0.3	8.1±0.2	6.0±0.4
DEX2	4.2±0.2	7.2±0.4	6.0±0.5	6.0±0.4

Spleen cells were cultured with aqueous extract of Cervus Elaphus Xanthopgus or aqueous distillation of Cervus Elaphus Xanthopgus for 24hour, 48hour, 72hour in 96 mice culture plate. Activity is respresented as cpm of 3 H-TdR. CON: control. EEX1: Aqueous Extract of Cervus Elaphus Xanthopgus. EEX2: Aqueous Extract of Cervus Elaphus Xanthopgus, 10time dilution. DEX1: Aqueous Distillation of Cervus Elaphus Xanthopgus. DEX2: Aqueous Distillation of Cervus Elaphus Xanthopgus, 10time dilution.

2. 면역세포활성에 미치는 영향

1) 사이토카인 IFN- γ 생성에 미치는 영향

사이토카인 IFN- γ 발현은 Table 3에서 나타내고 있다. 즉 鹿茸추출액, 露劑, 모두 시간이 진행됨에 따라 현저하게 증가된 경향을 보여주고 있으며, 농도가 10배 짙은 것이 IFN- γ 생성을 증가시키고 있음을 보여주었다. 또한 추출액과 露劑의 사이토카인 발현 반응양상은 추출액은 시간이 경과함에 따라 72시간까지 지속적인 자극을 촉진하고 있으나, 露劑는 24시간 이후 점차적으로 활성이 감소하고 있음을 보여 주었다.

Table 3. Effect of various stimulators on the secretion of IFN- γ by spleen cells.

Group	INF- γ , pg/ml			
	0 hour	24 hour	48 hour	72 hour
CON	10.3±0.5	10.3±0.5	10.3±0.5	10.3±0.5
EEX1	10.3±0.5	25.0±2.0	35.6±2.5	44.6±4.9
EEX2	10.3±0.5	20.6±2.5	30.0±3.2	25.0±1.7
DEX1	10.3±0.5	34.3±3.2	31.0±1.7	25.0±2.6
DEX2	10.3±0.5	28.6±1.5	21.6±2.0	10.0±2.6

Spleen cells were cultured with aqueous extract of Cervus Elaphus Xanthopgus or aqueous distillation of Cervus Elaphus Xanthopgus for 24hour, 48hour, 72hour. CON: control. EEX1: Aqueous Extract of Cervus Elaphus Xanthopgus. EEX2: Aqueous Extract of Cervus Elaphus Xanthopgus, 10time dilution. DEX1: Aqueous Distillation of Cervus Elaphus Xanthopgus. DEX2: Aqueous Distillation of Cervus Elaphus Xanthopgus, 10time dilution.

2) IL-2생성에 미치는 영향

비장세포의 증식반응이 일어나면, 증식하는 세포는 여러 가지 종류의 면역반응을 매개하는 사이토카인을 분비한다. 분리한 비장세포를 well 당 5×10^6 개씩 넣고, 각 성분을 첨가하여 0시간, 24시간, 48시간, 72시간 배양한 후 배양 상층액을 회수하였다. 회수한 배양 상층액에 포함되어 있는 사이토카인의 농도와 종류는 ELISA로 측정하였다. Table 4에 나타난 것과 같이, 사이토카인 IL-2의 발현은 IFN- γ 의 발현과 유사한 양상을 보였으나 鹿茸추출액이 72시간대에서 발현이 감소하는 현상을 보였다. 즉 鹿茸추출액, 露劑, 모두 시간이 진행됨에 따라 현저하게 증가된 경향을 보여주고 있으며, 농도가 진할수록 IL-2생성활성도 증가되고 있음을 보여주었다. 또한 추출액과 露劑의 사이토카인 발현 반응양상은 추출액은 48시간대까지 지속적인 자극을 보였으나 72시간대에서 다소 활성이 떨어지는 현상을 보였다. 露劑는 24시간 이후 점차적으로 활성이 감소하고 있음을 보여 주었다.

Table 4. Effect of Cervus Elaphus Xanthopgus on expression of interleukin-2 receptors on BALB/c spleen cells.

Group	IL-2, μ g/ml			
	0 hour	24 hour	48 hour	72 hour
CON	20.3±2.5	20.3±2.5	20.3±2.5	20.3±2.5
EEX1	20.3±2.5	63.3±0.6	113.6±8.1	98.3±3.5
EEX2	20.3±2.5	60.3±4.0	81.0±6.5	80.3±4.7
DEX1	20.3±2.5	78.0±1.7	60.0±3.6	40.0±3.2
DEX2	20.3±2.5	60.6±6.0	40.6±2.1	37.6±0.5

The cell were incubated with various concentrations of aqueous extract of Cervus Elaphus Xanthopgus or aqueous distillation of Cervus Elaphus Xanthopgus for 24hrs, 48hrs, 72hrs at 5% CO₂ incubator. CON: control. EEX1: Aqueous Extract of Cervus Elaphus Xanthopgus. EEX2: Aqueous Extract of Cervus Elaphus Xanthopgus, 10time dilution. DEX1: Aqueous Distillation of Cervus Elaphus Xanthopgus. DEX2: Aqueous Distillation of Cervus Elaphus Xanthopgus, 10time dilution.

3) 자연살해세포 활성에 미치는 영향

두 가지 성분이 자연살해세포의 암세포주 파괴 활성을 증가

시키는 효과가 있는지를 검색하였다. 먼저, 실험하기 전 각 성분을 물에 녹여서 마우스가 2주일간 자유롭게 섭취하도록 하였다. 그 후 비장세포를 분리하여 효과세포로 사용하였고, 마우스 자연살해세포에 민감한 세포주인 YAC-1 세포주를 표적세포로 사용하였다. 효과세포와 표적세포의 비율을 5:1 또는 10:1로 섞어서 6시간 배양한 다음에 파괴되는 세포에서 방출되는 LDH(lactate dehydrogenase)의 양을 측정하여 자연살해세포의 활성을 측정하였다. Table 5에 나타난 것과 같이, 鹿茸추출액과 露劑를 2주일간 섭취시켰을 때, 자연살해세포 활성이 대조군에 비해 현저히 높게 나타났다. 이러한 경향은 효과세포와 표적세포의 비율을 5:1 또는 10:1로 하여도 비슷하게 증가하는 것으로 나타났다.

Table 5. Effects of aqueous extract of Cervus Elaphus Xanthopgus or aqueous distillation of Cervus Elaphus Xanthopgus on NK cell activity.

Condition	% Cytotoxicity	
	(E : T) 5 : 1	(E : T) 10 : 1
CON	50.2±5.2	44.3±3.2
EEX	64.0±4.3 ^{***}	71.6±4.2 ^{***}
DEX	55.1±4.3	58.0±3.6 ^{***}

The sample were orally fed to BALB/c for 14days. E : Effect, T : Target(YAC-1) The values represent the mean±standard deviation. Significantly different from control as determined by student's t-test (** : P<0.01, *** : P<0.001). CON group : 1.0ml distilled water/day/mouse. EEX group : Aqueous Extract of Cervus Elaphus Xanthopgus, 1.0ml/day/mouse. DEX group : Aqueous Distillation of Cervus Elaphus Xanthopgus, 1.0ml/day/mouse

4) 세포성면역 Plaque Forming Cell(PFC) 및 Rosette Forming Cell(RFC) 검출에 미치는 영향

항체생성능을 PFC과 RFC로 측정한 결과는 Table 6과 같다. PFC에서는 CON군이 150±14인 비해서 EEX군은 290±20으로 약 1.9배, DEX군은 1.6배정도 증강된 PFC형성세포수가 증가되었다 (P<0.001). 또한 RFC에 있어서도 CON군이 55±7에서 EEX군은 96±10, DEX군은 85±14로 각각 1.7배, 1.5배 정도 높게 나타났다 (P<0.01). 鹿茸의 투여가 비장의 면역 세포에 큰 영향을 미치는 것으로 보아 鹿茸의 추출액이 면역계 세포에 항체생성 능력을 증강시키는 것으로 사료됨은 물론. 鹿茸추출액과 露劑를 10일간 섭취시켰을 때, 면역세포 활성이 증가하는 것을 알 수 있었다. 그러나 추출액이 露劑에 비해서 면역세포의 활성도가 우세하였으며, 이는 추출액이 露劑에 비하여 약효의 지속성이 露劑에 비하여 연속되고 있음을 보여주고 이는 반면, 露劑는 단시간에 속효성임을 나타내어 주고 있음을 세포활성화 실험에서도 확인하였다.

Table 6. Effect of aqueous extract of Cervus Elaphus Xanthopgus or aqueous distillation of Cervus Elaphus Xanthopgus on the plaque forming cell and rosette forming cell after the anti-SRBC response BALB/c

Group	Number of PFC/ 5×10 ⁶ spleen cell	Number of RFC/ 1×10 ⁷ spleen cell
CON	150±14	55±7
EEX	290±20 ^{***}	96±10 ^{***}
DEX	250±21 ^{***}	85±14 ^{***}

The sample were orally fed to BALB/c for 10days. The mice were immunized with SRBC at 4days before assay. The values represent the mean±standard deviation. Significantly different from control as determined by student's t-test (** : P<0.01, *** : P<0.001) CON group : 1.0ml distilled water/day/mouse. EEX group : Aqueous Extract of Cervus Elaphus Xanthopgus, 1.0ml/day/mouse. DEX group : Aqueous Distillation of Cervus Elaphus Xanthopgus, 1.0ml/day/mouse

3. 탐식능에 미치는 영향

생쥐의 복강에서 얻은 복강 침출세포(PEC)의 대식세포가 *Candida parapsilosis*에 대한 탐식작용을 나타낸 결과는 Table 7이다. 대조군의 탐식능이 25.0±3.0%에 비해 鹿茸추출액투여군은 43.0±4.0%(p<0.01)로 유의한 증강을 보였으며, 鹿茸露劑투여군은 32.0±4.0%로 탐식작용이 증가하는 경향을 보였다.

Table 7. Effect of aqueous extract of Cervus Elaphus Xanthopgus or aqueous distillation of Cervus Elaphus Xanthopgus on phagocytic activity of peritoneal exudate

Group	Phagocytosis(%)
CON	25.0±3.0
EEX	43.0±4.0 ^{***}
DEX	32.0±4.0 ^{***}

The sample were orally fed to BALB/c for 10days. The mice were immunized with SRBC at 4days before assay. The values represent the mean±standard deviation. Significantly different from control as determined by student's t-test (** : P<0.01) CON group : 1.0ml distilled water/day/mouse. EEX group : Aqueous Extract of Cervus Elaphus Xanthopgus, 1.0ml/day/mouse. DEX group : Aqueous Distillation of Cervus Elaphus Xanthopgus, 1.0ml/day/mouse

고찰

대부분의 補養藥은 正氣가 虛하여 외부로부터 들어오는 邪氣의 침범을 받아 正氣가 虛한 상태에 정기를 補하여 줄 목적으로 사용된다. 이 중 대표적인 약물인 鹿茸은 脊椎動物門 哺乳綱 有蹄目 鹿科에 속하는 사슴의 未骨化된 袋角을 말하는 것²⁴⁾으로 神農本草經²⁵⁾에 “味甘溫 主崩下惡血 寒熱驚癇 益氣強志 生齒不老 角主惡癰腫 逐邪惡氣 留血在陰中”이라고 최초로 기록된 이래 壯元陽 補氣血 益精髓 強筋骨 등의 목적으로 強壯 및 성호르몬 작용이 있으며 이외에 심장의 활성을 증가시킨다는 것으로 임상에서 널리 활용되어 왔다. 이에 따라 鹿茸은 한의학적으로 元陽을 補함으로써 인체의 생식, 성장 등의 기본적인 생리기능을 증진케 하는 효능이 있고, 筋骨을 補함으로써 肝腎부족으로 일어나는 諸症狀인 소아의 발육불량, 근육이나 골격의 발달불량, 운동능력의 발달불량, 유아의 보행지연, 유아의 生齒지연, 泉門閉鎖지연 등에 六味地黃丸에 鹿茸을 加하여 활용되고 있으며 氣血兩虛로 인한 고도의 빈혈에도 鹿茸이 첨가되어 활용되고 있다.²⁶⁻³⁰⁾ 이러한 鹿茸에 함유되어 있는 성분중 지금까지 밝혀진 것으로는 leucine, methionin, lycine, glycine, proline, glutamic acid 등 17 종류의 아미노산, galactose, hexose, glucose, pentose 등 당류, Ca, Mg, Al, Si, P 등 13종의 무기원소가 확인되었고 그밖에 spingomyelin, ganglioside, pentocrine, proteolipid 등 물질이 검출되었다.^{16,29-32)}

그 동안 鹿茸의 효능을 구명하기 위하여 여러 가지 측면에서 많은 학자들에 의해 연구가 이루어졌다. 또 이 연구와 관련된 것은 기발표 업적중 면역성에는 鹿茸이 임파모세포전화를 촉진하므로 간접적으로 세포면역성을 증가시키는 작용이 있고 녹각교가 암환자의 거식세포의 탐식율 및 탐식지수를 증가시키는 것, 백서에서 鹿茸과 항원 혼합투여군의 혈청단백 함량증가로 항체 활성이 있는 γ-globulin의 함량을 증가시키는 것, 귀룽탕이 세포성 면역 및 체액성 면역반응을 촉진시키는 것, 鹿茸이 ethanol로 유발된 간손상을 회복시키고 methotrexate, cyclophosphamide

등 항암요법제를 사용시 야기되는 정상세포손상과 면역억제작용을 막아주고 prednisolone에 의한 면역억제작용을 감소시키는 것을 보고^{7,13,33,34)} 하였다.

면역이란 인체내에서 어떤 요인으로 인해서든지 이물의 침입이나 변이세포가 발생하면 생체방어기구, 즉 immune system이 관여하여 이물은 물론 새로이 발생된 변이세포를 非自己로 인식하여 처리하는 능력을 발휘함으로써 개체의 항상성을 유지하려는 현상이다. 면역반응은 항원이 체내로 들어올 때 두 개의 다른 형태로 나타난다. 크게 세포성면역과 체액성면역으로 구분된다. 세포성면역반응은 주로 T림파구에 의해 이루어지는 데 경우에 따라서는 T세포나 B세포가 아닌 임파구나 거식세포에 의하여 이루어지기도 한다. 체액성면역반응은 항원특이적분자인 항체에 의해 이루어지는 것으로 T 림파구의 도움을 얻어 B 림파구에 의해 항체가 생산되는 것으로 알려져 있다. 이러한 생체의 면역반응은 MTX를 투여하면 저하되는 데 이는 MTX가 folic acid와 구조상 유사하여 folic acid의 길항물질로 작용하므로 folic acid에서 folic acid의 전환에 관여하는 folic acid reductase를 저해하여 folic acid로 환원되는 것을 억제하므로서 DNA합성을 억제하기 때문이며 생체에 있어서 folic acid 결핍을 일으키고 특히 백혈구감소현상이 뚜렷하다.^{35,36)}

전통한방제형은 중국이나 한국에 있어서 시대가 발전되면서 종류가 다양화되고 제법, 규칙, 준치, 복약법 등이 통일되었다. 한방제형은 크게 液體제제, 固體제제, 半固體제제 등으로 분류할 수 있는 데 액체제제는 湯劑, 酒劑, 飲劑, 露劑 등이고 고체제제는 환제, 단제, 산제, 정제, 다제, 전제, 고제, 병제 등이며 반고체제제는 膏劑 등으로 이 중 5대제형 즉 湯, 散, 丸, 丹, 膏劑 등이 다양되었다. 제형은 각기 특성상 장단점이 있는 데 다른 형태를 채용한 것은 病情의 수요에 의하여 결정되었으며 복약법에 있어서도 전탕기간, 복용시간 등이 病情의 부위에 따라 달리하였다.³⁷⁾ 이 중 하나인 증류한약은 일반 약탕기에서 3-4시간 가량 달여 추출한 한약액을 한번 더 기열하여 그 때 발생하는 증류수를 모아 만든 이슬과도 같은 한약을 말한다. 증류한약에 대해 학계에서는 구체적이고 정확한 설정이 이루어지지 않고 있으나 임상계 특히 소아전문병원을 표방하는 곳에서는 아래와 같은 인식속에서 구체화시키고 있다. 즉 증류한약은 일반 한약의 탁한 색소 및 향을 제거하여 길으로는 물과 같으나 고유한 치료성분을 정제한 순수자연요법의 무공해 한약이라 하면서 정신과 기가 몸에 비해 왕성한 0세부터 13세 사이의 어린이에게 효과적이며, 특히 아토피성 피부염, 태열, 아제증, 식욕부진, 소아감기 및 각종 알레르기 질환, 허약체질에 뛰어난 치료효과가 있으며 특히 보약에 있어서는 약을 꾸준히 복용하는 것이 필수적이므로 쓰지 않고 맑은 물과 같은 증류한약을 이용하면 거부감이 오랫동안 복용할 수 있다고 설정하고 있다. 이것을 임상계에서 쓰는 이유는 아래와 같은 장점이 있기 때문이다. 첫째 복용이 간편하다는 것이다. 증류한약은 무색, 무미의 쓴맛이 없는 새로운 개념의 한약으로 남녀노소 누구나 복용하기가 쉽고 간편하다. 특히 한약의 쓴맛이 없기 때문에 어린이는 물론 입덧이 심한 임산부도 안심하고 복용할 수 있다. 둘째 소화 흡수가 빠르고 치료가 신속하다

는 것이다. 증류한약은 기존의 한약약재에 비하여 소화 흡수가 월등히 빠르고 뛰어난 것으로 나타난다. 또한 기존의 한약을 복용하면 나타날 수 있는 소화기 장애를 완벽히 해결함으로써 치료가 신속하고 부작용이 없다. 셋째 부작용이 없고 치료효과가 탁월하다는 것이다. 사람이 섭취한 것은 어떤 것이든 부드럽게 흡수되고 배설되어야 좋은 것이다. 특히 약은 우리 몸속 오래 남아 있으면 내성이 생겨서 약이 잘 안 받는 등 부작용을 일으킬 수도 있다. 증류한약은 소화 흡수가 빠르고 뛰어나고 어지러움이나 울렁거림 등 한약 복용시 흔히 일어날 수 있는 부작용없이 복용할 수 있어서 그 치료 효과가 탁월하다고 한다.

이에 저자는 제형에 따라 각기 특성상 장단점이 있으며 다른 형태를 채용한 것은 病情의 수요에 의하여 결정된다고 보아 제형변화로 사용하고 있는 鹿茸을 비롯하여 모든 약물의 제형의 변화에 따른 효율적인 약물사용의 지표를 얻고자 기존의 추출액(湯劑)과 露劑의 鹿茸을 대상으로 일반적으로 제기되는 면역학적인 효능상태의 차이를 검토하였다.

세포증식에 미치는 영향을 주는 MTT반응에 따른 비장세포의 증식반응을 알아보기 위하여, 분리한 비장세포를 well 당 5×10^5 개씩 넣고 실험재료를 첨가하여 0시간, 24시간, 48시간, 72시간 배양하여 증식정도를 비교하였다. 그 결과는 Table 1, Fig.1과 같다. 鹿茸추출액은 48시간대에서 가장 높은 활성을 나타내었으나, 露劑는 24시간대에 가장높은 활성을 보인 후 시간이 경과함에 따라 활성도가 떨어졌다. 鹿茸추출액 원액이 10배 희석한 용액에 비해 높은 활성을 나타냈고, 露劑에 있어서도 露劑원액이 10배 희석한 액에 비해서 대체로 높게 나타났다. 이 결과는, 鹿茸의 성분이 비장세포에 대해서 세포증식을 유발시킴을 확인할 수 있었고, 또한 鹿茸추출액과 露劑가 모두 비장세포의 증식반응을 유도하였으며, 그리고 鹿茸추출액이 露劑보다 지속적인 증식반응을 유도하는 것으로 나타났다. 따라서 반응시간대는 鹿茸의 Mitogen활성은 露劑가 추출액에 비해서 활성반응이 빠름을 확인할 수 있었다. DNA합성에 미치는 영향을 드러내는 Mitogen활성은 비장세포 배양을 통해서 DNA합성으로 $0.5 \mu\text{Ci}$:트리튬티미딘($^3\text{H-TdR}$)의 증식세포 측정으로 수행되었다. 배양 24시간 48시간 72시간에 걸쳐서 측정한 결과는 Table 2, Fig. 2와 같다. 鹿茸의 추출액은 72시간까지 지속적으로 DNA의 합성을 촉진하여 세포의 증식이 계속되고 있음을 확인할 수가 있었다. 그러나 露劑는 24시간대에 최대의 합성속도를 보인 후 시간이 경과함에 따라 합성속도가 감소하고 있음을 보였다. 이 결과는, 鹿茸이 비장세포에 대해서 세포증식을 유발시킴을 확인할 수 있었다. 따라서 鹿茸추출액과 露劑의 활성도를 시간대에 따라 비교할 때 MTT에 의한 실험결과와 유사한 양상을 보인 것처럼 露劑가 추출액에 비해서 활성의 반응시간대가 초기에 일어나고 있음을 확인할 수 있었다. 면역세포활성에 미치는 영향을 주는 사이토카인 IFN- γ 발현은 Table 3, Fig. 3에서 나타내고 있다. 즉 鹿茸추출액, 露劑, 모두 시간이 진행됨에 따라 현저하게 증가된 경향을 보여주고 있으며, 농도가 진할수록 INF- γ 생성활성도 증가되고 있음을 보여주었다. 또한 추출액과 露劑의 사이토카인 발현 반응양상은 추출액은 시간이 경과함에 따라 72시간까지 지속적인 자극을

촉진하고 있으나, 露劑는 24시간 이후 점차적으로 활성이 감소하고 있음을 보여주었다. 비장세포의 증식반응이 일어나면, 증식하는 세포는 여러 가지 종류의 면역반응을 매개하는 사이토카인을 분비한다. 그리고, IFN- γ 는 내재면역반응에 관여하는 대식세포를 활성화시키는 중요한 역할을 하는 사이토카인이다.³⁸⁾ 이상의 결과는 鹿茸의 추출액과 露劑가 INF- γ 의 생성을 다소 유도되고 있음은 helper T세포의 증식에 다소 영향을 주고 있음을 추정할 수 있으며, 이는 앞선 실험 결과와 종합해 볼 때 세포증식과 면역증강에 영향을 주고, 그 양상은 초기에는 露劑의 성분이 그 다음에는 추출액의 성분에 의한 활성화가 진행되는 것으로 추정할 수 있겠다. IL-2생성에 미치는 영향을 주는 비장세포의 증식반응이 일어나면, 증식하는 세포는 여러 가지 종류의 면역반응을 매개하는 사이토카인을 분비한다. 분리한 비장세포를 well 당 5×10^6 개씩 넣고, 각 성분을 첨가하여 0시간, 24시간, 48시간, 72시간 배양한 후 배양 상층액을 회수하였다. 회수한 배양 상층액에 포함되어 있는 사이토카인의 농도와 종류는 ELISA로 측정하였다. Table 4, Fig.4에 나타난 것과 같이, 무처리 대조군에 비해, 鹿茸 추출액은 48시간대에서 가장 높은 IL-2생성 활성을 보였고, 鹿茸 露劑는 24시간에 최대의 활성을 보인 후 시간이 경과함에 따라 감소하였다. IL-2는 적응면역반응에 관여하는 보조 T세포와 살세포 T세포의 증식을 유도하는 역할을 하며²²⁾, IL-4는 역시 적응면역반응에 관여하는 B세포의 항체 생산을 유도하는데 필요한 사이토카인으로 알려져 있다³⁹⁾. 그리고 IFN- γ 는 내재면역반응에 관여하는 대식세포를 활성화시키는 중요한 역할을 하는 사이토카인이다. 배 등³⁸⁾의 연구보고에서 arabinoxylane, polysaccharideprotein은 비장세포를 직접 자극하여 IFN- γ 분비를 유도하였으며, 특히 PSP는 IFN- γ 뿐만 아니라 IL-2, IL-4, IL-10 분비도 유도한다는 보고로 볼 때, 추출액과 露劑의 성분들이 T세포와 B세포의 자극형태 및 사이토카인들의 분비 양상 등에 대해서 더욱 심도있는 연구가 요구된다. 자연살해세포 활성에 미치는 영향을 주는 우리 몸에서 자연적으로 발생하는 암세포를 포함한 비정상적인 세포는 자연살해세포(Natural Killer cells)에 의하여 제거된다. 자연살해세포는 특징적인 세포질 과립들을 가지며, 이전의 면역접촉이나 활성화가 없어도 종양세포주들을 죽일 수 있는 능력에 의해 기능적으로 확인되었다.¹⁹⁾ 따라서, 두 가지 성분이 자연살해세포의 암세포주 파괴 활성을 증가시키는 효과가 있는지를 검색하였다. 먼저, 실험하기 전 각 성분을 물에 녹여서 마우스가 2주일간 자유롭게 섭취하도록 하였다. 그 후 비장세포를 분리하여 효과세포로 사용하였고, 마우스 자연살해세포에 민감한 세포주인 YAC-1 세포주를 표적세포로 사용하였다. 효과세포와 표적세포의 비율을 5:1 또는 10:1로 섞어서 6시간 배양한 다음에 파괴되는 세포에서 방출되는 LDH(lactate dehydrogenase)의 양을 측정하여 자연살해세포의 활성을 측정하였다. Table 5에 나타난 것과 같이, 鹿茸추출액과 露劑를 2주일간 섭취시켰을 때, 자연살해세포 활성이 대조군에 비해 현저히 높게 나타났다. 이러한 경향은 효과세포와 표적세포의 비율을 5:1 또는 10:1로 하여도 비슷하게 증가하는 것으로 나타났다. 이상의 결과로 鹿茸을 2주간 섭취하였을 경우에 자연살해세포의 활성이 증가하는 것을 알

수 있었다. 따라서 추출액이 露劑에 비해서 자연살해세포의 활성도가 우세하였으며, 이는 추출액이 露劑에 비하여 약효의 지속성이 露劑에 비하여 연속되고 있음을 보여주고 이는 반면, 露劑는 단시간에 속효성을 나타내어 주고 있음을 세포활성화 실험에서 확인하였다. 세포성면역 Plaque Forming Cell(PFC) 및 Rosette Forming Cell(RFC) 검출에 미치는 영향을 주는 항체생성능을 PFC와 RFC로 측정된 결과는 Table 6과 같다. PFC에서는 CON군이 150 ± 14 인 데 비해서 EEX군은 290 ± 20 로 약 1.9배, DEX군은 1.6배 정도 증강된 PFC형성 세포수가 증가되었다 ($P < 0.001$). 또한 RFC에 있어서도 CON군이 55 ± 7 에서 EEX군은 96 ± 10 , DEX군은 85 ± 14 로 각각 1.7배, 1.5배 정도 높게 나타났다 ($P < 0.01$). 鹿茸의 투여가 비장의 면역 세포에 큰 영향을 미치는 것으로 보아 鹿茸의 추출액이 면역계 세포에 항체생성 능력을 증강시키는 것으로 사료됨은 물론. 鹿茸추출액과 露劑를 10일간 섭취시켰을 때, 면역세포 활성이 증가하는 것을 알 수 있었다. 그러나 추출액이 露劑에 비해서 면역세포의 활성도가 우세하였으며, 이는 추출액이 露劑에 비하여 약효의 지속성이 露劑에 비하여 연속되고 있음을 보여주고 이는 반면, 露劑는 단시간에 속효성을 나타내어 주고 있음을 세포활성화 실험에서 확인하였다. 따라서 이는 식세포, 단세포, B세포 등을 자극하여 생체방어시스템을 활성화해서 체질을 강화하는 성분일 것으로 추정할 수 있겠다. 그리고 성분에 따라 반응시간의 차이가 있음을 확인할 수 있었다. 탐식능에 미치는 영향을 주는 생쥐의 복강에서 얻은 복강 침출세포(PEC)의 대식세포가 *Candida parapsilosis*에 대한 탐식작용을 나타낸 결과가 Table 7이다. 대조군의 탐식능이 $25.0 \pm 3.0\%$ 에 비해 鹿茸추출액 투여군은 $43.0 \pm 4.0\%$ ($p < 0.01$)로 유의한 증강을 보였으며, 鹿茸露劑투여군은 $32.0 \pm 4.0\%$ 로 탐식작용이 증가하는 경향을 보였다. 탐식능 실험에 사용된 *Candida*는 *Aspergillus*, *Actinomyces* 등과 같은 상재 비병원성 진균으로서 건강인에게는 병원성을 나타내지 않지만 신생아, 면역결핍증 환자, 면역억제 요법을 받은 사람, 백혈병이나 악성 임파종의 환자 등 숙주측의 면역능저하 또는 이상이 있는 경우 가끔 심한 감염을 초래하는 것으로 알려져 있다.⁴⁰⁾

이상과 같이 기존의 추출액(湯劑)과 露劑의 鹿茸을 대상으로 일반적으로 제기되는 면역학적인 효능상태의 차이를 검토해 본 결과 약효성은 조금 떨어지나 어느 정도의 유효성을 유지하면서 속효성을 바라는 경우에 露劑사용도 가능하다고 보여져 제형변화로 사용하고 있는 鹿茸을 비롯하여 모든 약물의 제형의 변화에 따른 효율적인 약물사용의 지표에 도움되리라 보며 본 연구를 토대로 동물대상 실험연구, 그리고 임상실험연구가 앞으로 병행되어야 할 것으로 사료된다.

결론

鹿茸을 비롯한 약물의 제형변화에 따른 효율적인 약물사용의 지표를 얻고자 기존의 추출액(湯劑)과 露劑의 鹿茸을 대상으로 일반적으로 제기되는 면역학적인 효능상태의 차이를 검토해 본 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

비장세포의 증식 효과를 지닌 비장세포의 증식을 鹿茸추출액과 露劑가 MTT법과 DNA합성에 의해 측정된 결과 시간이 경과함에 따라 비장세포의 증식을 유도하였다. 초기에는 露劑가, 후반부에는 추출액이 증식반응을 활성화시켰다. 비장세포의 사이토카인 생산 효과를 지닌 사이토카인의 생산에 있어서도 IFN- γ , IL-2 생산을 유도하였다. 생산양상은 세포증식과 같이 초기에는 露劑가, 후반부에는 추출액이 증식반응을 활성화시켰다. 자연살해세포 활성화는 2주간 투여한 결과 대조군에 비해 자연살해세포의 활성이 증가하였고, 露劑보다는 추출액이 활성이 강하게 나타났다. PFC 및 RFC 형성능을 지닌 비장의 면역세포의 모두 PFC는 鹿茸추출액은 1.9배, 露劑는 1.66배, RFC에 있어서는 추출액은 1.74 배, 露劑는 1.54배의 유의한($P < 0.01$, $P < 0.001$) 증강을 보였다. 탐식능의 효과는 대조군에 비해서 추출액이 18%, 露劑는 7%의 증강을 나타내었다.

이상의 결과에서 보여 주듯이 鹿茸추출액과 露劑 모두 세포 증식 및 면역활성도에 정도의 차이는 있었으나 현저한 활성도를 보였다. 露劑는 초기에, 추출액은 露劑에 비해 후반부에 작용하는 것으로 보아 단기간의 변화를 이끌 필요가 있을 때는 露劑의 제형형태로, 장기간의 변화를 이끌 필요가 있을 때 추출액의 제형형태가 더 의미있는 것으로 사료된다.

참고문헌

- 장지총 마시, 황제내경소문영추(장마합주), 대북, 대연국풍출판사, p. 15, 1974.
- 문준전 외, 동의병리학, 서울, 고문사, p. 23, 1990.
- 김광중 외, 장부학의 이론과 임상, 일지사, 1997.
- 이문호, 내과학, 서울, 박애출판사, pp. 1989-1999, 1977.
- 이종훈, 병원미생물학, 서울, 수문사, pp. 133-183, 1976.
- 고병희, 녹용, 숙지황, 인삼, 오가피가 면역반응 및 NK세포활성도에 미치는 영향, 경희대학교박사학위 논문, 1986.
- 김덕호 외, 귀룽탕이 면역기능에 미치는 실험적 연구, 대한한의학회지 6(2):55-63, 1985.
- 김장현, 공진단이 면역반응 항피로 및 내분비기능에 미치는 영향, 경희대학교박사학위논문, 1988.
- 하대유 외, 인삼에 관한 세균학 및 면역학적 연구(제3보), 인삼이 mouse의 면역반응에 미치는 영향, 대한면역학회지, 1(1):45-52, 1979.
- 한용남 외, 인삼이 면역증강효과에 관한 연구, 인삼연구보고, pp. 285-294, 1979.
- 황영명 외, 수치에 따른 3종의 지황이 면역반응에 미치는 영향, 경희의학 3(3), 1987.
- 고병희 김광호 송일병, 四種 녹용의 면역학적 효능에 관한 실험적 연구, 한의학회지, pp. 197-201, 1994.
- 김광호 외, 수중한약재가 제암제 및 Glucocorticoid의 항체생산 억제작용에 미치는 영향, 조영식박사학위논문집, pp. 1041-1050, 1981.
- 최달영, 실험적 간손상 백서에 녹용투여가 미치는 영향에 관한 연구, 경희한의대논문집, 2, pp. 43-51, 1979.
- 이민영 외, 녹용의 조절작용에 대한 실험적 연구, 대한본초학회지, Vol.16, No.1, 2001.
- 정재환 외, 녹용 및 보아탕 가 녹용이 어린 흰쥐의 학습과 기억에 미치는 영향, 경희한의대 논문집, 제23권 제1호, 2000.
- S. J. Jeong, S. T. Yee, W. S. Jo, S. H. Yu, Sang H. Lee, Y. J. Lim, Y. H. Yoo, J. M. Kim, J. D. Lee and M. H. Jeong. A Novel Factor Isolated from Actinobacillus actinomycetemcomitans Stimulates Mouse B Cells and Human Peripheral Blood Mononuclear Cells. Infection and Immunity, 5132-5138, 2000.
- 정영란, 하미혜, 김성호, 조성기, 변명우, 조현욱, 서권일, 이성태. 일부 한약재의 동종항원에 대한 세포증식 및 살세포반응 억제효과. 한국식품영양과학회지: 29(6):1133-1138.
- T. Kato, T. Morokata, O. Igarashi, S. T. Yee, M. Inobe, T. Uede, M. Azuma, K. Okumura and H. Nariuchi. Costimulatory Effect of IL-2 on the Activation of Naive, Memory CD4+ T Cells, and Th1 Clone. Cellular Immunology 176, 50-58, 1997.
- Lanier, L.L., and Phillips, J.H.: Evidence for three types of human cytotoxic lymphocyte. Immunol. Today, 7:132, 1986.
- Cunningham, A J and Szemberg, A: Further improvements in the plaque technique for detecting single antibody-forming cell. Immunology, 14,599, 1968.
- Garvey, J. S. : Method In Immunology., W. A. Benjamin Inc. 449-450, 1980.
- 小松靖弘, 小野尚彦, 安部千之 : 貪食能の測定法-マウス腹腔細胞および candida parapsilosis (CP) を用いて-. 炎症 4 : 379-380, 1984.
- 이상인, 본초학, 서울, 의약사, p. 50, (1975).
- 미상, 신농본초경, 대북, 집문서국, 1권 p. 12, 1976.
- 허준, 동의보감, 남산당, p. 698, 1981.
- 이시진, 본초강목, 서울, 고문사, p. 406, 1975.
- 전국한의과대학교수 공편, 본초학, 서울 영림사, pp. 545-546, 1991.
- 江蘇新醫學院編, 중약대사전, 상해, 상해과학기술출판사, pp. 29-36, 1978.
- 이상인 외, 한약임상응용, 서울, 성보사, pp. 331-333, 1986.
- 왕육생, 중약약리응용, 북경, 인민위생출판사, pp. 15-29, 400-406, 626-637, 1090-1093, 1983.
- 김은영 외, 동물경조직 단백질의 조성과 생리기능에 관한 연구-녹각의 경단백질에 대하여- 한국생화학회지 6(1):13-26.
- 이제동의, 녹용, 황기, 당귀수침이 방사선 피폭에 의한 면역기능저하에 미치는 영향, 서울, 경희한의대논문집, 17(2):119-140, 1994.
- 최평라, 녹용이 Methotrexate로 유발된 면역저하에 미치는 영향, 서울, 경희한의대논문집, 15 pp.203-229, 1992.
- 菊地浩吉 외, 최신면역학, 이연대역, 서울, 집문당, pp. 31-35,

- 62, 69, 1982.
36. Claman, H.N. et al., Thymusmarrow cell combinations, synergism in antibody production. Soc. Exp. Biol. Med. Proc., Vol.59, 83-87, 1966.
37. 한관석 외, 전통한방제형에 대한 문헌적 고찰, 본초학회지, 1989.
38. Hayward, A.R., Chmura, K., Cosyns, M.: Interferongamma is required for innate immunity to cryptosporidium pravum in mice. J. Infect. Dis. 182: 1001-1004, 2000.
39. Osmond, D.G., Rolink, A., and Melchers, F.: Murine Blymphopoiesis: towards a unified model. Immunol. Today, 19:65-68, 1998.
40. 서순봉, 김기흥, 박용준 : 의진균학, 대학서림, pp.67-88, 1994.