

누에, 맥문동복합물의 흥선 림프절내 T세포 활성화 유도 효능 연구

김일규^{1#}, 박해진^{2#}, 김경조¹, 김수현¹, 김민주¹, 이진아¹, 노성수^{1*}

1 : 대구한의대학교 한의과대학 본초약리학교실, 2 : 대구한의대학교 산학협력단 코스메디컬센터

Mixture *Bombyx mori* L. and *Liriopsis* seu *Ophiopogonis* Tuber effects on T cells in Thymus, Lymph Nodes

Il Gyu Kim^{1#}, Hae-Jin Park^{2#}, Kyeong Jo Kim¹, Soo Hyun Kim¹
Min Ju Kim¹, Jin A Lee¹, Seong-Soo Roh

1 : Department of Herbology, College of Korean Medicine, Daegu Haany University, Republic of Korea
2 : Cosmedical Center, Academic Industry Cooperation, Daegu Hanny University, Republic of Korea

ABSTRACT

Objectives : The purpose of this study is to investigate effects on the immune system of *Bombyx mori* L. and *Liriopsis* seu *Ophiopogonis* Tuber mixture (BL) in Thymus, Lymph Nodes.

Methods : Eight-week-old male Balb/c mice were divided into five groups : Group one included the normal mice (Nor). Positive control group two administrated with red ginseng (RG) 100 mg/kg . Group three administrated with *Bombyx mori* L. (BX) 300 mg/kg. Group four administrated with *Liriopsis* seu *Ophiopogonis* Tuber (LP) 300 mg/kg. Group five administrated with the mixture of *Bombyx mori* L. and *Liriopsis* seu *Ophiopogonis* Tuber (BL) 300 mg/kg. After 2 weeks administration, mice were sacrificed and antigen receptor in Thymus, Lymph Nodes was analyzed by using Fluorescence Activated Cellorter Sorting (FACS). we counted the total of Thymus and Lymph Nodes cells. GOT (glutamlc oxaloacetic transaminase), GPT (glutamlc pyruvic transamlnase) in serum were analyzed after experiment.

Results : In Effects of Nor, RG, BX, LP, BL on the ratio of CD4+CD8+, CD4+CD69+ and CD4+CD25+ T cell in Thymus and Lymphnode, BL is higher than other groups except Nor in CD4+, CD4+CD69+, CD4+CD25+ T cell. The number of Thymus and Lymph Nodes increased in BL. In the level of GOT and GPT, BL decreased comparing to others group except Nor.

Conclusions : BL may have effect on T cells in Thymus, Lymph Nodes. In addition, *Bombyx mori* could be immune functional material with others herb materials.

Key words : *Bombyx mori* L., *Liriopsis* seu *Ophiopogonis* Tuber, Thymus, Lymph Nodes, T cell.

I. 서 론

면역은 체내에 존재하는 자기방어체계로서 인체가 외부로부터 침입해오는 각종 물질이나 생명체를 자기 자신에 대한 이물질로 인식하여 제거하고 대사시키는 과정이다.

적응 면역반응은 특정 항원에 대하여 특정 림프구가 작용

하여 기억하고 있다가, 동일 항원이 다음에 들어오면 반응한다. 적응 면역반응은 B림프구가 관여하는 체액성 면역반응과 T림프구가 관여하는 세포 매개성 면역반응으로 구분된다.¹⁾ 체액성 면역반응은 항원 자극과 T림프구의 도움 등이 가해지면 B림프구는 항체를 생성하여 혈액과 림프로 분비한다.²⁾ 세포매개성 면역반응에 관여하는 T림프구는 항체를 생성, 분비하지 않고

*Corresponding author : Seong-Soo Roh, College of Korean Medicine, Daegu Haany University, 136, Sincheondong-ro, Suseong-gu, Daegu, 42158, Republic of Korea.

· Tel : +82-53-770-2351 · Fax : +82-53-768-6340 · E-mail : ddede@dhu.ac.kr

#First author : Il Gyu Kim, College of Korean Medicine, Daegu Haany University, 136, Sincheondong-ro, Suseong-gu, Daegu, 42158, Republic of Korea.

· Tel : +82-53-770-2258 · Fax : +82-53-768-6340 · E-mail : kimilkyu12@naver.com

· Received : 17 April 2018 · Revised : 06 August 2018 · Accepted : 25 September 2018

세포에 가까이 접촉을 하여 세포를 제거한다.³⁾

면역에 관여하는 세포 중 림프구는 흥선, 비장, 림프절 등에 들어가 분화 성숙하여 림프구 클론 집단을 형성하고 방출된다. 흥선에 들어간 림프구는 T림프구가 되고 T림프구가 아닌 대부분의 림프구를 B림프구라고 한다. T세포는 크게 보조 T세포와 세포독성 T세포로 구분된다. 보조 T세포는 CD4 표지자를 통해 표적세포가 MHC class II 통해 제시한 항원을 인식한 후 활성화되어 B세포에 자극을 가한다. 자극을 받은 B세포는 항체를 분비하기 위한 형질세포 클론을 형성하거나 기억B세포 클론을 형성한다. 세포독성 T세포는 CD8 표지자를 가지고 있으며 표적세포가 MHC class I 통해 제시한 항원을 인식한 후 표적세포에 구멍을 내어 세포사멸을 유도한다.⁴⁾

‘동의보감(東醫寶鑑)’에 맥문동은 “主虛勞客熱, 口乾燥渴, 治肺痿吐膿, 療熱毒, 身黑, 目黃, 補心清肺, 保神, 定脈氣”로 언급 되어있다.⁵⁾ 실험을 통한 맥문동은 항 기아스트레스⁶⁾, 간손상보호⁷⁾, 면역조절효과⁸⁾, 폐 보호효과⁹⁾, 항알르레기 효과¹⁰⁾ 등으로 알려져 있다. ‘동의보감(東醫寶鑑)’에 白僵蠶은 “主小兒驚癇, 去三蟲, 滅黑黚, 及諸瘡癩痕, 并一切風疾, 皮膚痒痺, 又主婦人崩中, 下血”로 언급 되어있다.⁵⁾ 동의보감에는 병에 걸려 죽은 누에인 백강잠을 언급했지만 최근의 실험을 통한 누에는 기도 점액분비효과¹¹⁾, 혈당지질 및 혈당농도 저하 효과¹²⁾, 면역활성 효과¹³⁾ 등 다양한 논문이 발표되었다.

두 시료가 가진 면역활성 효과 관련 선행연구를 통한 보고를 근거로 복합물의 형태로 흥선, 림프절내 T세포 활성화 가능성을 확인하고자 실험을 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험 동물

8주령 Balb/c계 수컷 생쥐를 샘타코 바이오 (Korea, Osansi)에서 구입하여 실험에 사용하였다. 동물 사육실의 조건은 conventional system으로 온도 22±2℃, 습도 50±5% 명암 주기 (light : dark cycle)는 12시간 주기로 조절 하였다. 사료는 고품사료 (Samyang corporation, Seoul, Korea), (조단백질 22.1% 이상, 조지방 8.0% 이하, 조섬유 5.0% 이하, 조회분 8.0% 이하, 칼슘 0.6% 이상, 인 0.4% 이상, 항생제 무첨가)와 물을 충분히 공급하였다.

2. 시료 추출

본 실험에서 사용한 맥문동은 음니허브 (대구, 한국)에서 구입한 것을 생약규격집에 맞추어 대구한의대학교 한의과대학에서 관능 검사하여 약전규격에 합격한 것만을 정선하여 실험에 사용하였고 누에는 영천양잠농협에서 분말을 구입하였다. 맥문동 100 g을 분쇄하여 환류추출기 (heating Mantle, MS-DM609/20L)에 넣고 100℃ 에서 증류수를 1 ℓ 가하여 120분 추출하였다. 그 후 감압증류기 (N-1200A, EYELA, CO, LTD, Japan)를 이용하여 추출액을 농축하는 과정을 거치고, 동결건조기 (PF-10/ ALPHA 1-2LD, Germany)를 통하여 건조된 열수 추출물을 얻어 -80℃에서 냉동 보관하여 실험에 사용하였다. 누에 분말 100 g을 환류추출기 (heating

Mantle, MS-DM609/20L)에 넣고 100℃ 에서 증류수를 1 ℓ 가하여 120분 추출하였다. 그 후 감압증류기 (N-1200A, EYELA, CO, LTD, Japan)를 이용하여 추출액을 농축하는 과정을 거치고, 동결건조기 (PF-10/ ALPHA 1-2LD, Germany) 를 통하여 건조된 열수 추출물을 얻어 -80℃에서 냉동 보관하였다. 누에추출물 수율은 18.2%, 맥문동 추출물 수율은 11.8%이다. 누에, 맥문동복합물은 각각의 추출물을 1:1로 혼합하였다.

3. 흥선, 림프절에서 활성화 T 림프구의 형광 유세포 분석 및 세포수 측정

흥선, 림프절을 적출하여 100 mesh로 비장세포를 분리하여 D-PBS로 5분간 원심분리 1700 rpm하고 세척한 후 cell strainer에 통과시켜 세포 이외의 분해되지 않은 조직이나 불순물을 제거했다. 분리된 흥선, 림프절을 2회 1%의 FBS가 함유된 PBS 로 세척한 후 cell strainer 에 통과시켜 세포 이외의 불순물을 제거했다. 각각의 시험 관에 흥선, 림프절세포를 5×10^5 세포로 조정된 후 4℃에서 면역 형광염색을 실시했다. Flow cytometry의 Cell Quest 프로그램을 이용하여 CD4+ CD69+, CD4+CD25+, 그리고 CD4+CD8+의 활성화세포 빈도 (%)로 분석하였다.

4. 흥선, 림프절 총 세포수 측정

Balb/c계 생쥐를 정상군 (Nor), 양성대조군 홍삼추출물 (RG) 100 mg/kg, 대조군 누에추출물 (BX) 300 mg/kg, 대조군 맥문동추출물 (LP) 300 mg/kg, 대조군 누에, 맥문동복합추출물 (BL) 300 mg/kg군으로 6마리씩 나누어 14일간 경구 투여하였다. 실험동물을 ethyl ether로 마취시킨 후 흥선, 림프를 각각 적출하여 100mesh로 세포를 분리하여 D-PBS로 5분간 원심분리 1700rpm하여 2회 세척한 후 cell strainer에 통과시켜 세포 이외의 분해되지 않은 조직이나 불순물을 제거 하였다. 세포들을 ACK 용액을 실온에서 5분간 처리하여 적혈구를 용해시키고, 다시 D-PBS로 2회 세척한 후 0.04% trypan blue 로 염색한 후 세포수를 측정하였다.

5. 간 손상 지표 분석

혈청의 glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic pyruvic transaminase (GTP)는 assay kit (Wako Pure Chemical Industries, Ltd, Osaka, Japan)의 프로토콜에 따라 측정하였다.

6. 통계분석

모든 수치는 평균과 표준오차로 표시하였으며, SPSS (Version 22.0, IBM, Armonk, NY, USA)을 사용하여 one-way analysis of variance (ANOVA) test를 실시한 후 least-significant differences (LSD) test로 사후검증을 실시하여 각 군의 평균 차이에 대한 통계적 유의성을 p-value < 0.05에서 검증하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 홍선, 림프절에서 활성화 T 림프구의 활성화빈도 비율 및 세포수 측정

분리된 림프절 내 면역세포를 분석한 결과, CD4+, CD8+ T세포의 비율은 다섯 군 사이에 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. CD4+CD69+ T세포의 비율은 BL투여군 경우 3.4%로 Nor군과 RG투여군 CD4+CD69+ T세포의 비율보다 0.8%, 0.2% 높게 나타났다. CD4+CD25+ T세포의 비율은 BL투여군 경우 6.2%로 나타났으며, Nor군, RG투여군 CD4+CD25+ T세포의 비율보다 3.6%, 3%보다 높게 나타났다. (Figure 1)

분리된 홍선 내 면역세포를 분석한 결과, CD4+ T 세포의 비율은 BL투여군 경우 15.4%로 나타났으며, Nor 보다 낮지만 RG투여군의 비율과 비슷하였다. CD8+ T세포의 비율은 BL투여군 경우 2.5%로 나타났으며 다른 군보다 낮게 나타났다. (Figure 2)

분리된 림프절 내 총 CD4+ 세포수를 분석한 결과, CD4+ T 세포수는 Nor군의 경우 37.7×10^5 cells 로 나타났으며, RG투여군 경우 70.2×10^5 cells 로 증가하였다. BL 투여군 경우 101.5×10^5 cells로 Nor군과 RG투여군보다 높게 증가했다. 분리된 림프절 내 총 CD4+CD69+ T세포수를 분석한 결과, 1.7×10^5 cells 로 나타났으며, RG투여군 경우 3.6×10^5 cells 로 증가하였다. BL투여군 경우 6.3×10^5 cells 로 Nor군과 RG투여군보다 높게 증가했다. 분리된 림프절 내 총 CD4+CD25+ T세포수를 분석한 결과, Nor군 경우 3.6×10^5 cells 로 나타났으며, RG투여군 경우 8.1×10^5 cells 로 증가하였다. BL투여군 경우 9.0×10^5 cells 로 Nor군과 RG투여군보다 높게 증가했다. (Figure 3)

분리된 홍선 내 총 CD4+ T세포수를 분석한 결과 Nor 경우 17.0×10^6 cells 로 나타났으며, RG투여군 경우 20.6×10^6 cells 로 증가하였다. BL투여군 경우 47.9×10^6 cells 로 Nor군과 RG투여군보다 높게 증가했다. (Figure 4)

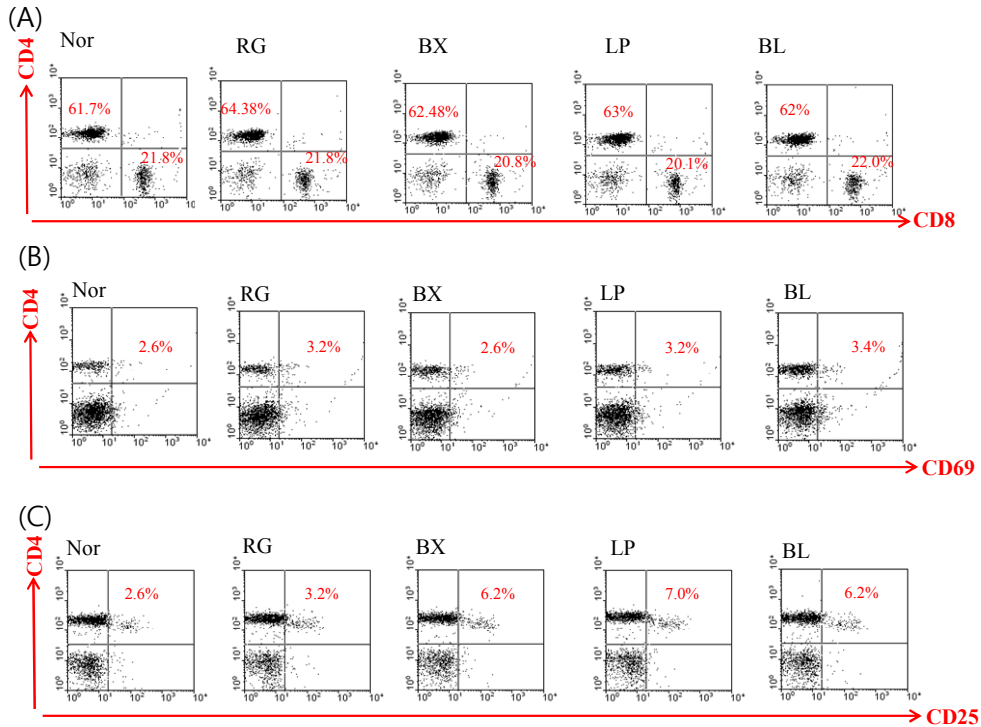


Fig. 1. Effects of Nor, RG, BX, LP, BL on the ratio of T cells in Lymph Nodes.

(A) Effects of Nor, RG, BX, LP, BL on the ratio of T cells CD4+CD8+ (B) Effects of Nor, RG, BX, LP, BL on the number of T cells CD4+CD69+ (C) Effects of Nor, RG, BX, LP, BL on the ratio of T cells CD4+CD25+.

Nor : Normal. RG : Red Ginseng. BX : *Bombyx mori* L. LP: Liriopis seu Ophiopogonis Tuber BL: the mixture of *Bombyx mori* L. and Liriopis seu Ophiopogonis Tuber

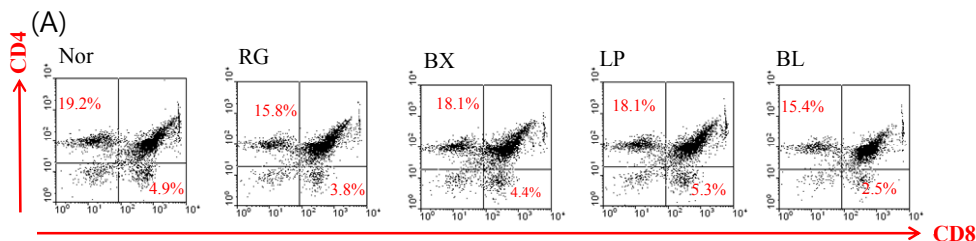


Fig. 2. Effects of Nor, RG, BX, LP, BL on the ratio of T cells in Thymus.

(A) Effects of Nor, RG, BX, LP, BL on the ratio of T cells CD4+CD8+.

Nor : Normal. RG : Red Ginseng. BX : *Bombyx mori* L. LP: Liriopis seu Ophiopogonis Tuber BL: the mixture of *Bombyx mori* L. and Liriopis seu Ophiopogonis Tuber

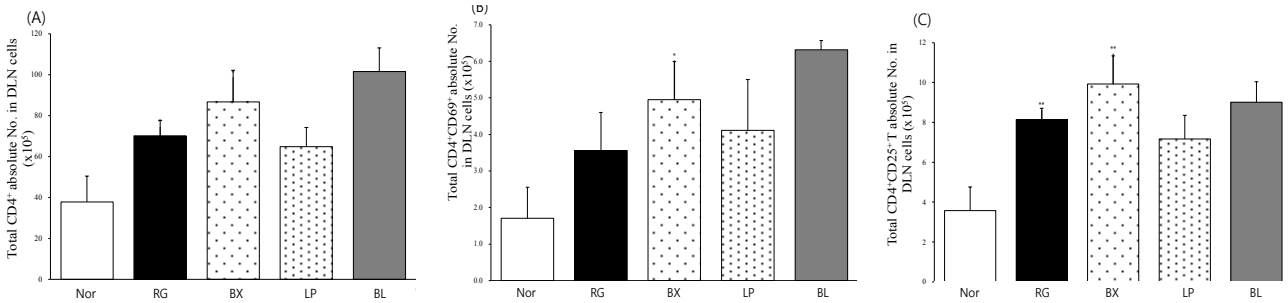


Fig. 3. Effects of Nor, RG, BX, LP, BL on the number of T cells in Lymph Nodes. (A) Effects of Nor, RG, BX, LP, BL on the number of T cells CD4+ (B) Effects of Nor, RG, BX, LP, BL on the number of T cells CD4+CD69+ (C) Effects of Nor, RG, BX, LP, BL on the number of T cells CD4+ CD25+. Nor : Normal. RG : Red Ginseng. BX : *Bombyx mori* L. LP: Liriopis seu Ophiopogonis Tuber BL: the mixture of *Bombyx mori* L. and Liriopis seu Ophiopogonis Tuber Significance: ** $p < 0.01$ vs Nor.

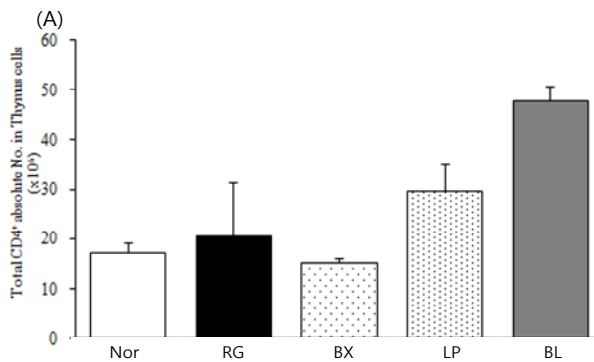


Fig. 4 Effects of Nor, RG, BX, LP, BL on the number of T cells in Thymus (A) Effects of Nor, RG, BX, LP, BL on the number of T cells CD4+CD8+. Nor : Normal. RG : Red Ginseng. BX : *Bombyx mori* L. LP: Liriopis seu Ophiopogonis Tuber BL: the mixture of *Bombyx mori* L. and Liriopis seu Ophiopogonis Tuber. No significance

2. 림프절, 흉선 총 세포수

림프절 총 세포수는 BL투여군 경우 14×10^6 으로 나타났으며 Nor 경우 6×10^6 , RG투여군 경우 10×10^6 보다 높게 증가하였다. (Figure 5) 흉선 총 세포수는 BL투여군 경우 25×10^7 으로 나타났으며 Nor 경우 7×10^7 , RG투여군의 경우 13×10^7 , 12×10^7 만큼 높게 증가하였다. 그리고 단일추출물인 BX투여군, LP투여군보다 18×10^7 , 8×10^7 만큼 높게 증가하였다. (Figure 6)

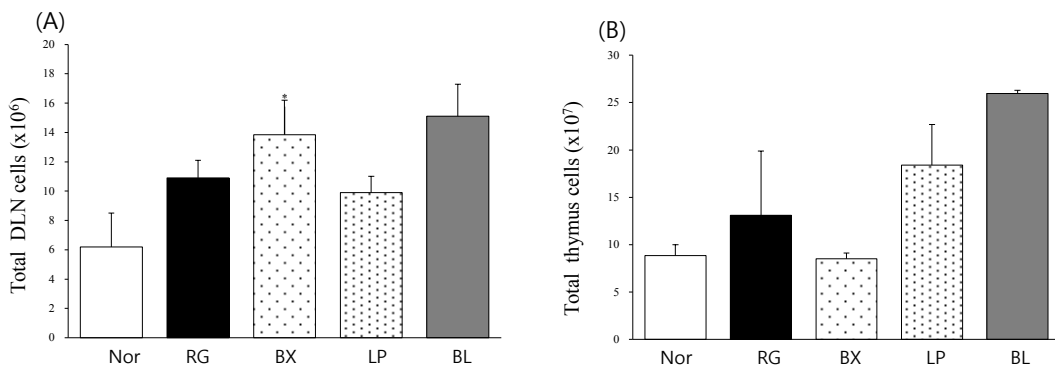


Fig. 5. The number of T cell on Nor, RG, BX, LP, BL (A) The number of T cell on Nor, RG, BX, LP, BL in Lymph Nodes (B) The number of T cell on Nor, RG, BX, LP, BL in Thymus. Nor : Normal. RG : Red Ginseng. BX : *Bombyx mori* L. LP: Liriopis seu Ophiopogonis Tuber. BL: the mixture of *Bombyx mori* L. and Liriopis seu Ophiopogonis Tuber Significance: * $p < 0.05$, vs. Nor

3. GOT, GPT 측정

혈액 내 GOT 효소를 분석한 결과, Nor군 경우 62 u/l 로 나타났으며, RG투여군은 85 u/l로 Nor군에 비해 증가하였다. BX 투여군은 88 u/l 로 Nor군에 비해 증가하였다. LP투여군은 90 u/l 로 나타났다. 또한 BL투여군은 Nor군 보다 증가하였다.

혈액 내 GPT 효소를 분석한 결과, 정상군의 경우 27 u/l 로 나타났으며, RG투여군은 23 u/l로 Nor군에 비해 감소하였다. BX투여군은 26 u/l 로 나타났으며 LP투여군은 29 u/l 로 나타났다. 또한 BL투여군은 26 u/l 로 나타났다.(Figure7)

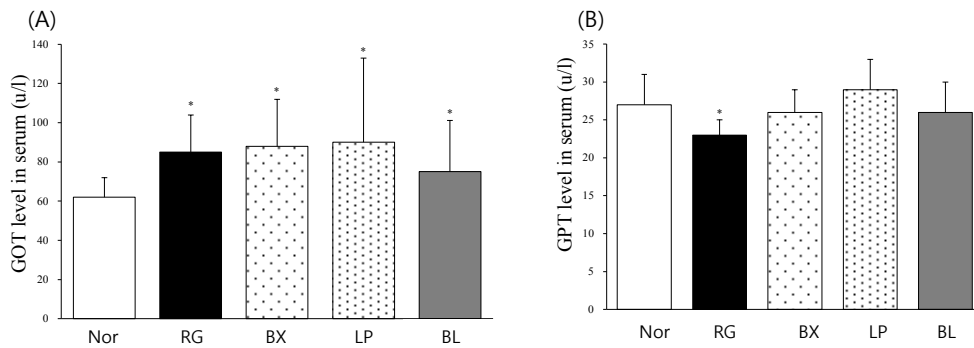


Fig. 7. glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic pyruvic transaminase (GPT) in serum. ALT level in TAA-induced rat; (A) GOT in serum. (B) GPT in serum. Nor : Normal, RG : Red Ginseng, BX : *Bombyx mori* L, LP: Liriopis seu *Ophiopogonis* Tuber BL: the mixture of *Bombyx mori* L, and Liriopis seu *Ophiopogonis* Tuber Significance: * $p < 0.05$, vs. Nor

IV. 고찰

림프계통은 체표면과 체내 환경을 감시하고 유해물질에 반응하는 세포, 조직, 기관으로 구성되어 있다. 림프계통에는 비장, 골수, 가슴샘, 림프절 등이 포함되어 있다. 림프구는 림프조직을 구성하는 가장 주된 세포이다. 림프에 존재하는 대부분의 림프구는 순환계통을 돌다가 빠져나와 림프조직으로 들어가 주위 조직에 대한 면역 감시기능을 한 후 다시 순환계통으로 들어간다.¹⁴⁾ 가슴샘은 가슴뼈의 뒤, 심장과 대동맥의 앞에 위치한다. 겉질과 속질로 나뉘며 조직학적으로는 그물세포와 그물섬유로 구성되어 있다. 겉질에는 림프구, 호중구, 호산구, 호염기구 등의 혈구 세포가 풍부하게 존재하고¹⁵⁾ 속질에는 림프구가 적고 그물구조로 이루어져 있다. 골수에서 만들어진 림프구의 전구 세포인 홍선세포가 홍선내 성숙과정을 거쳐 성숙한 T림프구로 발달하고 홍선세포 중 자기몸에 면역반응을 일으키는 세포는 홍선에서 사멸하고 외부 물질에 면역반응을 일으키는 세포는 성숙하는 과정을 거친다.¹⁶⁾

림프절은 전신에 분포하고 특히 겨드랑이, 사타구니, 목구멍 등에 많이 모여있다. 림프절은 겉질과 속질로 구성되어 있다.¹⁷⁾ 림프관을 타고 림프절로 들어온 림프액은 처음에 겉질 부위의 피막밑굴을 거쳐 속질부위의 속질굴을 거쳐 림프절을 빠져나가게 된다. 겉질의 바깥쪽에는 주로 B림프구가 모여 있어 외부 항원을 탐지하는 종자중심이 많이 분포하고 있다. 겉질의 안쪽에는 T림프구가 주로 모여있는 소포들이 분포되어 있다.¹⁸⁾

T림프구는 세포독성 T세포와 보조 T세포로 나누어진다. 도움CD4+ T세포와 세포독성CD8+ T세포는 T세포의 활성화에 필요한 상호자극신호 인자이다. CD4+CD25+ T세포는 조절(억제) T림프구라 불리며 여러 자가면역과 감염질환의 병인에 관여가 되며 이식거부를 억제하고자 할 때도 중요한 역할을 한다. 또 골수에서 적혈구세포 성숙과정을 조절하는 기능도 한다고 알려져 있다. CD4+CD69+ T세포는 면역반응에서 조절기능을 활성화시킨다.¹³⁾

유세포분석기(FACS)는 단일클론항체와 형광염색소와 함께 발전했으며, 이를 통해 하나의 세포가 갖는 면역상태를 파악하고 이에 따른 여러 면역질환에 대한 연구분야에 이용된다.¹⁹⁾

이러한 면역관련 장기인 비장, 림프절과 면역세포 도움CD4+ T림프구, 세포독성CD8+림프구, CD4+CD25+림프구, CD4+CD69+림프구 등에 미치는 누에, 맥문동 복합물의 면역활성을

알고자 실험한 결과 다음과 같은 결과 및 결론을 도출 할 수가 있었다.

분리된 홍선 내 면역세포를 분석한 결과, 누에, 맥문동복합 추출물투여군은 CD4+ T세포의 비율이 높게 나타났다. 누에, 맥문동복합물투여군은 세포독성 T세포 활성보다 보조 T세포의 활성효과가 있는 것을 알 수가 있다. 분리된 림프절 내 면역세포를 분석한 결과, 누에, 맥문동복합추출물투여군은 CD4+CD69+ T세포, CD4+CD25+ T세포의 비율이 높게 나타났다. 누에, 맥문동복합물투여군은 림프절에서 또한 세포독성 T세포보다 보조 T세포의 활성효과가 있는 것을 알 수가 있다.

누에, 맥문동복합물의 홍선과 림프절 총 세포수 경우 림프절에서 총 세포수가 증가했고 홍선에서 뚜렷한 총 세포수가 증가했다. 홍선에서 총 세포수가 증가했음을 통해 T세포의 활성을 알 수가 있고 림프절에서는 T세포 이외에도 다른 림프구의 면역반응 가능성을 알 수가 있다.

GOT, GPT는 아미노산을 형성하는 효소의 하나이다. GPT 양은 GOT에 비해 적고 GOT가 가장 많다. 간에서도 GPT는 GOT의 약 1/3 정도이고 GPT는 간특이성을 가지고 있다. 간 질환 및 손상 검사지표로 사용되고 있다.²⁰⁾

간 손상 지표 측정인 GOT, GTP 결과를 보면 GOT 경우 다른 투여군보다 낮게 나타났고, GTP 경우 홍삼투여군보다 높게 나왔지만 단일 투여군보다 낮게 나타났다. GOT, GTP 수치가 정상일 경우 간 손상이 일어나지 않았다는 의미이며 두 개의 단일 소재간 흡시 모를 독성 상호작용으로 인한 간 독성, 손상을 우려 하였지만 단일 소재의 GOT, GTP 수치보다 낮게 나타났다.

V. 결 론

본 연구에서는 누에, 맥문동복합물의 홍선, 림프절내 T세포의 면역활성을 분석한 결과 다음과 같은 결과를 도출했다.

1. 누에, 맥문동복합물은 세포독성 T세포 활성보다 보조 T세포의 활성화에 기여함.
2. 누에, 맥문동복합물은 홍선, 림프절이 다른 투여군보다 높게 세포 수가 증가함.

3. 누에, 맥문동복합물의 간 독성은 다른 투여군보다 낮은 경향성을 가짐.

따라서 누에, 맥문동복합물은 홍선, 림프절 내 T세포 중 보조 T세포가 홍선과 림프절내 활성화 되었다. 추가적으로 보조 T세포가 적응면역과 관련이 있으므로 적응면역반응에 관여할 수 있다. 다른 측면에서 누에, 맥문동복합물을 통해 맥문동과 비슷한 성분을 가진 한약이나 비슷한 효능을 가진 한약과 누에의 배합 가능성이 사료된다.

감사의 글

본 연구결과는 2016년도 산업통상자원부에서 시행한 지역주력산업 공동기반기술활용지원사업 (R0005510)의 지원에 의해 수행되었습니다.

References

1. Thomas W, McDade, Alexander V, Georgiev, Christopher W, Kuzawa, Trade-offs between acquired and innate immune defenses in humans. *Evol Med Public Health*, 2016 ; 1(1) : 1-16.
2. Michael C Carroll, David E Isenman, Regulation of humoral immunity by Complement. *Immunity*, 2012 ; 37(2) : 199-207.
3. Kumar, Abbas, Fausto, Mitchell, ROBBINS Basic Pathology, 8th rev. Seoul : E. Public, 2009 : 108-18.
4. Virchow JC Jr, Oehling A, Boer L, Hansel TT, Werner P, Matthys H, Blaser K, Walker C. Pulmonary function, activated T cells, peripheral blood eosinophilia, and serum activity for eosinophil survival in vitro: a longitudinal study in bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 1994 ; 94(2) : 240-9
5. Cho Heonyeong, Park Wigeun, Kim Dongil, Han Sangmo et al, Donguibogam, 3rd rev. Seoul : Yeo Gang, 2007 : 2879-962.
6. Jeong MH, Yun JM, Lee TH. Effect of Liriope Tuber on the Change of Corticosterone in Mice induced by Starvation Stress. *J Traditional Korean Med*, 2003 ; 18(4) : 279-87.
7. In JR, Ji YA. Hepatoprotective Effects of Water Extract of Liriope Tuber on Carbon Tetrachloride-induced Hepatotoxicity in Rats. *Kor J Pharmacogn*, 2003 ; 34(2) : 166-71.
8. Park SD, Lee GH, LeeYS, Kwon YK, Park JH, Choi SM, Shin SW. Comparison of Immunomodulatory Effects of Water-extracted Adenophorae Radix, Liriope Tuber, Dendrobii Herba, Polygonati Odorati Rhizoma and Polygonati Rhizoma. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology*, 2007 ; 21(2) : 414-24.
9. Lee ES, Yang SY, Kim MH, Nam GU, Park YC. Effects of Root of Liriope Spicata on LPS-induced Lung Injury. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology*, 2011 ; 25(4) : 641-649.
10. Kim HS, Park JH, Kim HK, Kim JH, Lee BN, Min JH, Kim EY, Jung HS, Lee H S, Sohn YJ. Effects of Ethanol Extract of Liriope platyphylla on Allergic Inflammation. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology*, 2014 ; 28(5) : 512-19.
11. Kang YG, Lim HB, Son HG, Lee YG, Lee DU, Nam SGH. Effect of Silkworm-Extract on Mucus Secretion in Rat Tracheobronchial Lumen. *Entomological Research*, 2000 ; 30(2) : 71-75.
12. Yun JH, Lee SG, Lee GB. Effects of silkworm extract powder on plasma lipids and glucose in rats. *Korean J. Food & Nutr*, 2005 ; 18(2) : 140-145.
13. Lee AR, Kim SH, Kim SJ, Kim KJ, LeeYC, Roh SS. Evaluation of Immunopotential Activities of Combined Extract of Silkworm and Food material. *J Traditional Korean Med*, 2017 ; 32(4) : 1-8.
14. Wojciech Pawlina. *Histology*, 7th rev. North American : wolters kluwer, 2015 : 2879-962.
15. Vincent Geenen, Gwennaëlle Bodart, Séverine Henry, Hélène Michaux, Olivier Dardenne, Chantal Charlet-Renard, Henri Martens, Didier Hober. Programming of neuroendocrine self in the thymus and its defect in the development of neuroendocrine autoimmunity. *Front Neurosci*, 2013 ; 16(7) : 187.
16. MING-WEI LIU, MEI-XIAN SU, WEI ZHANG, LIN-MING ZHANG, YUN-HUI WANG, CHUAN-YUN QIAN. Rhodiola rosea suppresses thymus T-lymphocyte apoptosis by downregulating tumor necrosis factor- α -induced protein 8-like-2 in septic rats. *Int J Mol Med*, 2015 ; 36 : 386-398.
17. Jiamin Liu, Joanne Hoffman, Jocelyn Zhao, Jianhua Yao, Le Lu, Lauren Kim, Evrim B, Turkbey, Ronald M. Summers. Mediastinal lymph node detection and station mapping on chest CT using spatial priors and random forest. *Med Phys*, 2016 ; 43(7) : 4362-74.
18. Kuka M, Iannacone M. The role of lymph node sinus macrophages in host defense *Ann N Y Acad Sci*, 2014 ; 131(9) : 38-46.
19. Guez-Barber D, Fanous S, Harvey BK, Zhang Y, Lehrmann E, Becker KG, Picciotto MR, Hope BT. FACS purification of immunolabeled cell types from adult rat brain. *J Neurosci Methods*, 2012 ; 203(1) : 10-8.
20. Zlotnik AI, Tsesis S, Gruenbaum BF, Ohayon S, Gruenbaum SE, Boyko M, Sheiner E, Brotfain E, Shapira Y, Teichberg VI. Relationship between glutamate, GOT and GPT levels in maternal and fetal blood: a potential mechanism for fetal neuroprotection. *Early Hum Dev*, 2012 ; 88(9) : 773-8.