

當歸飲子 水抽出液이 抗ALLERGY 反應과 MOUSE의 免疫細胞機能에 미치는 影響

盧石善* · 李起男**

I. 緒 論

當歸飲子は 宋·嚴用和의 濟生方(A. D. 1253년)에 처음 記載된 處方¹⁾으로 “心血凝滯 內蘊風熱 發於皮膚 遍身瘡疥 或腫 或疥 或膿水浸 或發赤疹”¹⁾과 “瘡疥風癬, 濕毒”²⁾ 등의 病症을 治療한다고 하였으며 具等^{17, 18)}은 乾燥性 皮膚疾患, 皮炎症, 皮膚 搔痒症, 慢性 濕疹 등에 응용된다 하였다. 免疫이란 外部의 微生物에 대한 個體의 抵抗뿐 만 아니라 個體內部에서 突然히 發生한 變異細胞에 대한 監視機能 그리고 恒常性 維持로 설명 할 수 있는데 그 機能中 防禦機能이 亢進되면 주로 炎症 反應을 통하여 組織損傷이 초래되는 알레르기 질환을 나타낸다.^{19, 23)}

韓醫學에서는 免疫이라는 概念이 明朝의 《免疫類方》²⁴⁾에 처음으로 記載되었으나 免疫과 關係되는 內容으로는 黃帝內經의 《諸熱病論》에서 “邪氣所湊 其氣必虛”라 하였고 《百病始生篇》에서 “風雨寒熱 不得虛邪 不能獨傷人” 및 《刺法論》의 “五疫之至 皆相染易 正氣存內 邪不可干”²⁵⁾이라하여 疾病의 發生過程이 個體의 抗病能力 즉, 宗氣, 營衛之氣, 臟腑之氣, 經絡之氣의 有無에 따라 좌우되며 이러한 氣血의 不足이 疾病을 發生시키는 主要因으로 보았다.^{24, 25)}

最近 免疫에 關한 韓醫學的 研究로서 金³¹⁾은 十全大補湯, 黃³⁴⁾은 十全大補湯加鹿茸, 元 등³⁵⁾은 補兒湯, 金 등³⁶⁾은 歸茸湯이 細胞性免疫反應 緬羊 赤血球에 대한 抗體形成反應 體液性免疫反應에 대한 免疫增強 效果를, 禹³⁷⁾는 葛根解肌湯이 T細胞 依存形 抗體 反應, 非依存形 抗體 反應, Polyclonal 抗體反應, 他系 Lymphocyte에 대한 胚子 發生反應을 통하여 免疫增強 效果를, 朴³⁸⁾은 歸脾湯 및 歸脾湯加味方의 細胞性, 體液性免疫反應, T-細胞 亞形分析, 大食細胞의 貪食 NK-Cell의 活性度を 측정하였다.

徐³⁹⁾는 仙防活命飲이 면역글로블린 Rosette 形成能 측정에 의해 細胞性免疫反應, 體液性免疫反應 增強效果를 報告하였다.

趙⁴⁰⁾는 淸肝湯이 SGOT, ALP 活性度の 抑制, 高⁴¹⁾는 脾臟에 존재하는 抗原結合細胞와 緬羊赤血球가 이루는 Rosette 形成能 抑制效果를, 崔⁴²⁾는 生肝湯이 면역글로블린, 溶血斑形成細胞數와 抗體媒介性 過敏反應, 貪食細胞機能 抑制效果를, 宋⁴³⁾은 黃蓮解毒湯이 細胞性免疫反應, 體液性免疫反應 抑制效果를, 李 등^{44, 45)}은 赤血球 凝集溶血素價, Rosette 形性細胞를 측정하여 免疫反應 抑制效果 報告하였다.

알레르기에 關한 研究로서는 金⁴⁶⁾의 淸肌散 및 淸肌散加味方, 金⁴⁷⁾의 蘇子降氣湯 및 蘇子導

* 大田大學校 韓醫科大學
** 圓光大學校 韓醫科大學

痰降氣湯, 李⁴²⁾의 仙方敗毒湯, 俞⁴³⁾의 荊芥蓮翹湯이 48時間內에서 동종 이인자의 수동피부과민反應측정 Histamine, Serotonin에 의한 血管透過性反應, Picryl Chloride에 의한 接觸性皮膚過敏反應 減少效果와 崔⁵⁰⁾는 加味麥冬湯의 即時形, 遲延形 알레르기反應과 Mucin 粘調度反應 抑制效果 報告하였다.

이 밖에도 高⁵¹⁾는 鹿茸 熟地黃 人蔘 五加皮가 細胞性免疫反應 體液性免疫反應 및 網內系巨食細胞 活動性 NK-Cell의 活性度增強效果, 崔⁵²⁾는 自然品, 栽培品 靈芝가 大食細胞의 食食能, 食食細胞의 反應酸素中間物質의 生成能, NK-Cell의 活性度免疫增強效果, Rosette 形成細胞增強效果, 細胞毒性反應을 報告하였다.

이에 著者는 當歸飲子가 血熱, 血虛, 血燥로 인한 瘡疥, 風癬, 濕毒의 慢性皮膚疾患을 治療하는바, 알레르기 疾患의 免疫調節機能과 어떠한 연관이 있는가를 究明하기 위하여 大食細胞의 食食能測定, 反應酸素中間物質의 生成能測定, 赤血球, 凝集素價溶血素價 測定, 接觸性過敏反應 測定, Rosette 形成能測定, Lymphocyte 代謝能測定을 實驗하였던 바 有意性 있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 材料

1) 動物

4에서 6주 사이의 BALB/C 생쥐(圓光大學校醫科大學飼育室)는 cage(18x20cm)당 10개체의 밀도를 유지하였으며 2주일간 室溫에서 물과 飼料(제일사료주식회사)를 충분히 공급하고 낮과 밤의 주기를 12시간씩 조절하면서 가능한 한 stress를 받지 않도록 飼育한 다음에 사용하였다.

2) 藥材

實驗에 사용한 藥材는 圓光大學校 韓醫科大學 附屬韓防病院에서 구입한 후 정선하여 사용한 각각의 내용과 분량은 濟生防⁵³⁾에 準하였다(Table 1).

2. 方法

1) 檢液調劑

蒸溜水 2,000cc를 넣은 삼각 flask에 當歸 飲子 281.1g을 넣고 4시간동안 加熱抽出한 것을 濾過布로 여과하였으며, 다시 重湯하여 각각 100ml로 농축하여 檢液으로 사용했다.

2) 檢液의 投與

檢液을 개체당 實驗群은 I은 0.2ml를 實驗群 II는 0.6ml을, 對照群은 0.85%의 saline 0.6ml을 각각 매일 1회 7일 동안 經口投與하였다.

<Table I> 當歸飲子

Drug Name	Sciece Name	Amount(g)
當歸(去蘆)	Radix Angelicae Gigantis	37.5
白芍藥	Radix Paeoniae Lactiflorae	37.5
生地黃(洗)	Rhizoma Rehmanniae	37.5
白疾藜(砂去)	Fructus Tribuli	37.5
防風(去蘆)	Radix Ledebouriellae	37.5
荊芥	Herba Schizonepetae	37.5
何首烏 ⁵⁴⁾	Radix Cynachi Wilfordii	18.7
黃耆(去蘆)	Radix Astragali	18.7
Total Amount		281.1g

註1) 原文의 處方에는 何首烏으로 記載되었으나 우리나라에서는 白何首烏가 頻用되고⁵⁵⁾ 있기에 著者任意로 사용하였음.

3) 貪食細胞의 反應 酸素 中間 物質(Reactive Oxygen Intermediate:ROI)

生成能의 測定⁵³⁻⁵⁶⁾

(1) 大食細胞(macrophage)의 유도

藥物이 投與된 마우스의 복강 멸균된 4.5% Brewer's modified thioglycolate medium 3ml을 주사하고 3일 후에 phosphate buffered saline(PBS)로 복강을 세척하여 大食細胞가 풍부한 peritoneal exudate cell(PEC)를 얻었다. PEC는 PBS 2회 세척후 veronal buffered saline에 細胞濃도가 1.5×10^6 Cell/300ml이 되도록 적정하여 Chemiluminescence(CL)을 측정하였다.

(2) Lucigenin에 의해 誘導된 Chemiluminescence(CL)의 測定

Veronal buffered saline을 이용해 1.5×10^6 cell/300 μ l로 적정된 PEC 單細胞을 Luminometer(LB 9509, Berthold)에서 37 $^{\circ}$ C로 15~30분 동안 preincubation시후 O₂를 측정할 수 있는 chemiluminigenic인 10 μ M의 Lucigenin 10 μ l를 주입하고 安定化 시킨후 大食細胞를 자극시킬 수 있는 5.3 μ M phorbol myristate acetate(PMA)10 μ l을 주입하고 37 $^{\circ}$ C 조건에서 약 60분간 CL을 측정했다.

(3) Luminol에 의해 誘導된 CL의 測定

Veronal buffered saline을 이용해 1.5×10^6 cell/300 μ l로 적정된 PEC 單細胞을 luminometer(LB 9505, Berthold)내에서 37 $^{\circ}$ C로 15~30분간 pre-incubation시킨후를 측정할 수 있는 chemiluminigenic probe인 10 μ M의 luminol 10 μ l를 주입하고 安定化 시킨 후 大食細胞를 자극시킬 수 있는 5.3 μ M PMA 10 μ l를 주입하고 37 $^{\circ}$ C 조건에서 약 60분간 CL을 측정했다.

4) 接觸性 過敏反應의 測定⁵⁷⁻⁶¹⁾

接觸性 過敏反應(contact hypersensitivity:CH)의 誘發을 위하여 dinitro-fluorobenzene(Sigma)를 抗原으로 사용하였다. Acetone과 Olive oil을 4:1의 比率(V/V)로 용해한 후 0.5% DNFB용액 20 μ l를 藥物 投與 8일된 實驗群 생쥐의 복강 피부에 感作하고 感作 후 4일에 0.2% DNFB용액 5 μ l를 耳輪內面에 각각 塗抹하여 惹起조치하였다.

腫脹 增加率은 Mitutoyo engineer's micrometer를 이용하여 惹起 직전과 惹起 후 24시간 뒤에 각각 측정하여 10 $^{-4}$ inch로 나타냈으며, 抑制(depression)의 百分率은 다음 公式에 의하여 계산하였다.

Depression Ratio(%=

$$(1 - \frac{\text{positive control-experimental control}}{\text{positive control-negative control}}) \times 100$$

5) Resette 形成細胞測定

(1) 抗原⁶²⁻⁶⁴⁾

胸腺 存在性 抗原으로 사용한 綿羊赤血球(sheep red blood cell:SRBC)는 全北大學校 獸醫科大學에서 飼育하고 있는 綿羊의 頸靜脈으로부터 採血한 후 동량의 Alsever's액(PH 6.1)을 가하여 4 $^{\circ}$ C에서 보관하면서 4주 이내에 사용하였으며 보관중인 SRBC를 사용할 때에는 사용직전에 멸균한 PBS로 2-3회 세척하여 1×10^8 cell의 농도로 적정한 후 사용하였다.

(2) Rosette 形成細胞의 測定⁶⁵⁻⁶⁸⁾

Rosette 形成細胞(rosette forming cell:RFC)의 측정은 다음의 方法에 따라서 測定하였다. 單核細胞 浮遊液은 實驗郡의 BALB/C 생쥐로부터 복강을 절개하여 脾臟(2個體混合)을 적출한 후 ficoll-paque을 이용하여 400g로 遠心시켜 얻었다. 이렇게 얻은 單核細胞

胞混合 浮遊液을 3×10^7 개의 細胞로 준비한 다음 附着細胞를 제거하기 위해서 멸균된 주사기(2ml)에 glass wool을 體積하여 2ml의 細胞浮遊液을 여과한 후 37°C 에서 30분 동안 배양하였다. 그 후 냉각된 15ml의 Hank's balanced salt solution(HBSS)를 계속해서 주사기에 주입하여 통과시켰다. 이와같이 준비된 淋巴球를 1×10^6 細胞로 적정한 후에 脾臟 細胞 1×10^7 에 SRBC를 혼합하여 37°C 에서 1시간 동안 배양하였다. Rosette 形成細胞의 測定은 上記와 같이 배양된 細胞 浮遊液을 4°C 暗冷狀態에서 12시간 이상 보관한 후에 400x 顯微鏡視野에서 淋巴球 한개 당 3개이상의 SRBC가 附着된 것을 rosette 形成 陽性으로 결정하였다.

6) 림프구代謝의 測定^{69,71)}

(1) 細胞培養 및 mitogen의 자극

檢液을 投與한 BALB/C 마우스에서 兩腋窩와 臍間에서 lymph node를 절제하여 PBS가 들어있는 petri-dish로 옮긴 후 슬라이드 글라스로 壓力을 가하여 單細胞 浮遊液을 만들었다. PBS로 2-3회 세척한 다음 각 well당 1×10^5 cell로 적정하여 10% fetal calf serum이 들어있는 RPMI 1640 medium을 여과하여 사용하였다. 각 조건으로 處理된 림프구는 concanavalum A $10 \mu\text{l}$ 을 여과하거나 여과하지 않고 72시간 동안 배양하였다.

(2) deoxyglucose 吸收量 調査

細胞내로 同化된 2-deoxy-d-glucose양으로 측정한 deoxyglucose 吸收量은 각 조건으로 배양하면서 배양 終了 3~5시간 前에 2-deoxy glucose($1 \mu\text{l}$ Ci/ml, Radiochemical, centre, Amerskam, UK)을 여과하여 배양 終了까지 pulse시켜 照射하였다. 同位元素로 pulse 시킨 후, PBS로 세척하고 cell harvester(INOTECH)을 이용하여 細胞를 濾過紙에 도은 후에 여과

지를 건조하여 Automatic Sample Processing and Filter Counting System IN-B-384(INOTECH)에서 1분간 放射能을 측정하였다.

7) 大食細胞의 貪食能 分析^{72,81)}

(1) 大食細胞의 誘導 및 分離

檢液 投與 11일된 實驗群 생쥐에 3ml의 멸균된 4.5% Brewer's modified thioglycolate broth를 복강강하에 주사하여 大食細胞의 복강내 이동을 유도하여 3일 후 實驗群 생쥐의 상피를 절개한 후에 복강에 멸균된 HBSS(Ca^{+} , Mg^{++} -free)5ml를 주사하여 pasteur pipette으로 복강내의 大食細胞를 분리하였다. 분리된 大食細胞는 HBSS로 3회 세척한 후 貪食能 分析에 사용하였다.

(2) 大食細胞의 貪食能 分析

大食細胞의 貪食能 測定은 fluoresceine isothiocyanate(FITC)로 라벨된 polystyrene latexparticle($1.88 \mu\text{m}$, polyscionces, Warrington)을 사용하였다. 5% fetal bovin serum이 여과되어 있는 RPMI 1640 medium에 1×10^6 개의 細胞와 5×10^7 개의 fluorescent latex particle $50 \mu\text{l}$ 를 여과한 후 95% O_2 와 5% CO_2 및 濕氣가 충분한 배양기에 45분간 37°C 에서 배양하였다. 배양후 2ml의 cold HBSS를 여과한 후 400g로 10분간 遠心分離하여 2회 반복 세척하였다.

綠色螢光을 나타내는 大食細胞의 貪食能은 流式細胞 分析機로 測定하였다. 488nm세기로 發光된 argonion laser beam 20mW 出力에서 分析되었으며, 綠色螢光 物質은 530nm의 band pass filter에서 선택적으로 투과되어 感知되었다 感知된 情報은 becton dickinson immunocytometry system의 Consort 30 Computer Program에 의하여 百分率로 計算되었다. 大食細胞의 貪食能 측정은 다음 公式에 따랐다.

$$\text{Phagocytic Activity(\%)} = \frac{\text{TE}_0 - \text{TE}_{45}}{\text{TE}_0} \times 100$$

TE₀ = FITC로 라벨된 latex particle(5x10⁷)과 대식세포(1x10⁶)를 0시간 배양 후 latex particle의 數

TE₄₅ = FITC로 라벨된 latex particle(5x10⁷)과 대식세포(1x10⁶)를 45분간 배양 후 latex particle의 數

8) 綿羊赤血球에 대한 凝集素價 및 溶血素價 測定⁸²⁻⁸⁵⁾

(1) 抗原

胸腺 依在性 抗原으로 사용한 SRBC는 全北大學校 獸醫科 大學에서 飼育하고 있는 綿羊의 頸靜脈으로 부터 採血한 후 同量의 Alsever's 液(pH 6.1)을 가하여 4℃에서 보관하면서 4주 이내에 사용하였으며 보관중인 SRBC를 사용할 때는 사용 직전에 멸균한 PBS(pH 7.2)로 2~3회 세척하여 1x10⁸ cell/ml 농도로 적정한 후 사용하였다.

(2) 凝集素價 및 溶血素價 測定

藥物 投與 7일째 모든 實驗群의 마우스에 1x10⁸ cell/ml의 SRBC를 복강내로 주입하여 免疫하고, 免疫후 7일에 眼球後靜脈으로 부터 pasteur pipette을 이용하여 採血한 다음 凝集素價 및 溶血素價를 측정하였다. 凝集素價의 측정은 實驗群으로부터 얻은 血清을 56℃에서 30분 동안 가열하여 補體作用을 제거한 후에 microtitration trays(Lymbro chemical co.)에 멸균한 PBS를 25μl씩 연속 稀釋한 후 여기에 1x10⁸ cells/μl의 SRBC를 50μl씩 각각 分注시킨 후 37℃에서 2시간 배양후 凝集이 발생한 최소 농도의 값으로 決定하였다. 溶血素價의 측정은 實驗群의 血清을 56℃에서 30분간 가열하여 補體作用을 제거한 후에 microtitration

Tray에 5% rabbit complement(PBS 19:RC1)를 25μl씩 分注한 다음 여기에 1x10⁸ cell/ml의 SRBC를 각각 分注하여 37℃에서 1시간동안 배양한 후 溶血이 발생한 최소 농도의 값으로 決定하였다.

III. 實驗成績

1. 貪食細胞의 反應酸素 中間物質生成能의 測定

大食細胞(macrophage)의 ROI 生成能을 측정하기 위하여 14일간 檢液을 투여한 實驗群 생쥐에 4.5% Brewer's modified thioglycolate medium 3ml을 복강피 하에 注射하여 macrophage를 誘導한 후 3일째 macrophage를 분리하여 lucigenin과 luminol을 添加하여 CL을 측정한 결과는 Fig.1과 Fig.2과 같다.

lucigenin에 의해 誘導된 macrophage의 ROI 生成能測定은 CPMx10⁷값으로 計算하였던 바 GI은 1.783x10⁷cpm(p<0.05), GII는 2.094x10⁷cpm(p<0.05)로 對照群의 18.08x10⁸cpm에 비하여 모두 有意性있게 減少하였다(Fig.1).

luminol에 의해 誘導된 macrophage의 ROI 生成能 측정은 CPMx10⁶으로 計算하였던 바 GI은 19.83x10⁶cpm으로 對照群의 19.86x10⁶cpm에 비하여 약간 減少하였으나, 有意性은 認定할 수 없고 GII는 8.844x10⁶cpm(p<0.05)로 顯著히 有意性있게 減少되었다(Fig.2).

2. 接觸性 過敏反應에 미치는 影響

BALB/C 마우스에 있어서 當歸飮子의 投與가 DNFB 減作에 의한 接觸性過敏反應에 미치는 影響을 알아보기 위하여 檢液을 7일간 經口 投與한 결과 DNFB 減作에 의한 接觸性過敏反應의 抑制率은 GI은 12.9±1.4%인데 비하

여 G2는 $25.6 \pm 1.8\%$ ($P < 0.05$)로 對照群에 비하여 有意性있게 抑制시켰다(Fig.3)

percent chemiluminescence

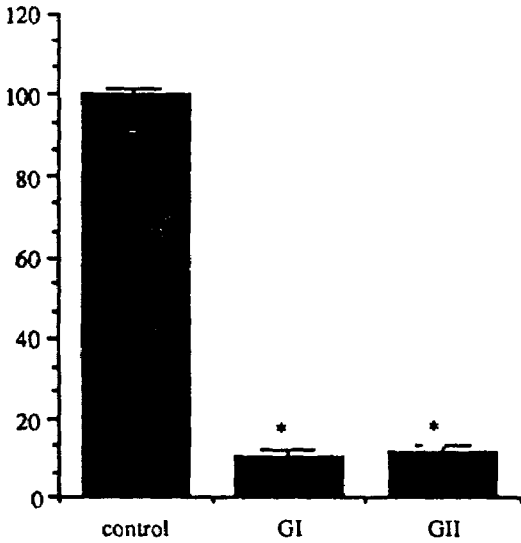


Fig1. Effect of G I and G II administration on the superoxide radical formation. Animals were given the drug orally for 7 days. The components of administered drugs are same as table 1. Murine peritoneal macrophage was induced by thioglycolate injection(3ml/mouse). Chemiluminogenic probe used was 10mM of lucigenin(10,10-dimethyl-9,9-biacridinium:DBN2⁺), which is amplifying superoxide radicals. Murine peritoneal macrophage(1.5×10^6 cells/300ul) was stimulated by phobol myristate acetate(PMA), and mesurment of superoxide radical was carried out in the chemiluminometer for 60min at 37°C incubation. Significant inhibition was shown in mice treated with G I and G II.

G I :Dangkiyeumja was given orally(0.2ml/mouse) for 7 days.

G II :Dangkiyeumja was given orally(0.6ml/mouse) for 7 days.

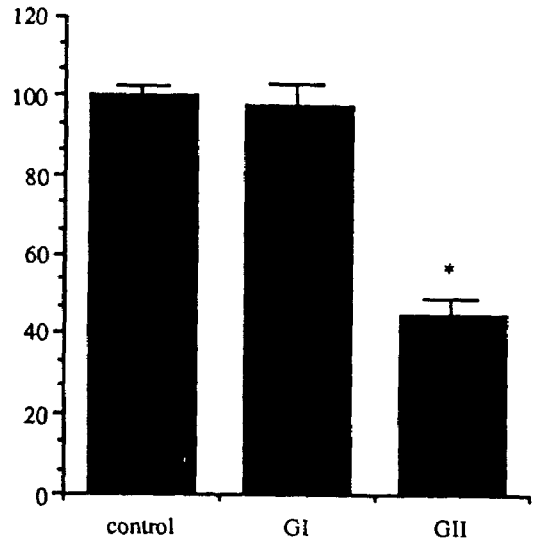


Fig.2 Effect of G I and G II administration on the hydrogenperoxide radical formation. Animals were given the drugs orally for 7 days. The component of administered drugs are same as table 1. Murine peritoneal macrophage was induced by thioglycolate injection(3ml/mouse). Chemiluminogenic probe used was 10mM of luminol(5-amino-2,3-dihydro 1,4-phthalazined ion), which is amplifying hydrogenperoxide radicals. Murine peritoneal macrophage(5×10^6 cells/ml) was stimulated by 5.3μM of phorbol myristate acetate(PMA), and mesurment of luminol chemiluminescence was carried out in the luminometer for 60min at 37°C incubation. Significant inhibition was shown in mice treated with G II.

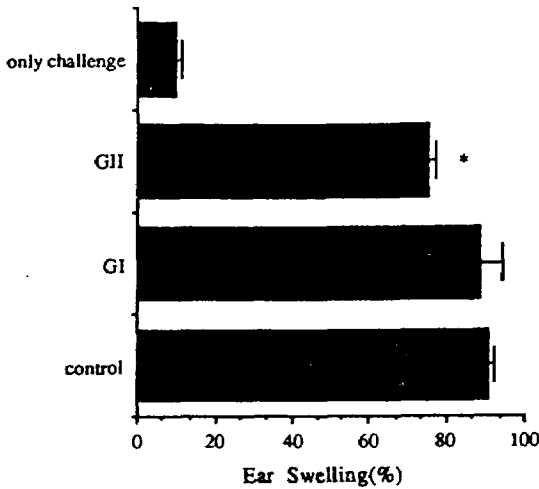


Fig.3. Effect Dang Ki Yeum Ja administration on contact hypersensitivity response in mice. Normal BALB/C mice were contact sensitized with 50 μ l of 0.5% DNFB in a vehicle of 4:1=acetone:olive oil on day. Ear swelling was measured 24 hours later. Significant inhibition of the contact hypersensitivity response was achieved in mice treated with G II on day 5. Data represent the mean depression ratio of ear swelling \pm S.E. *P<0.05 compared with control.

3. Rosette形成細胞에 미치는 影響

BALB/C마우스에 있어서 當歸飲子의 投與가 實驗群의 免疫赤血球에 대한 免疫反應細胞數를 비교하기 위해 마우스로 부터 脾臟을 摘出하여 脾臟細胞의 rosette 形成率을 測定하였던 바 Fig.4와 같다.

對照群의 脾臟細胞 10³ 細胞당 rosette forming cell(RFC)의 數는 對照群이 51.15 \pm 2.3, G I은 53.12 \pm 1.7인데 비하여 G II는 61.28 \pm 2.2 (P<0.05)로 有意性있게 증가하는 傾向을 보였다(Fig.4).

RFC/10³ Spleen Cell

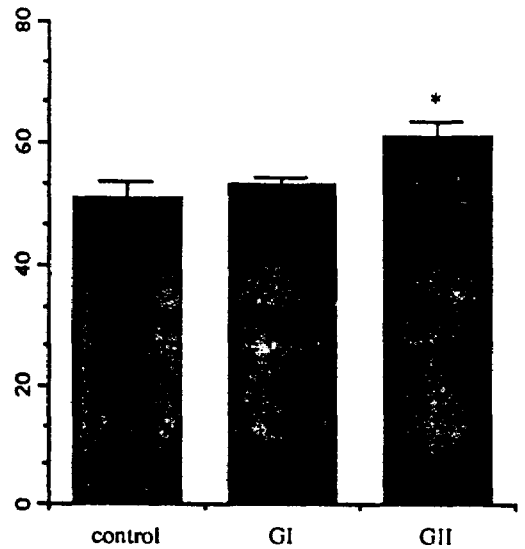


Fig.4. The effects of G I and G II administration on appearance of rosette forming cell(RFC) in mice. Mice were immunized with SRBC and spleens were assayed for RFC 4 days after immunization. Animals were given orally G I and G II for 7 days before sensitization and maintained 7 days after sensitization. The components of administered drugs was the same as Fig.1. Significant increment of the rosette formation was achieved in mice treated with G II. Data represent the mean RFC \pm S.E, obtained from a pool of two spleen. *P<0.05 compared with control.

4. lymphocyte의 代謝에 미치는 影響

當歸飲子의 投與가 BALB/C마우스의 림프구의 代謝에 미치는 影響을 살펴보기 위하여 7일간 檢液을 投與한 후 Con A로 자극하였을 때와 자극하지 않았을 때 H-deoxyglucose uptake를 照射하여 deoxyglucose 吸收量을 알아보았다(Fig.5-6).

counts per minute

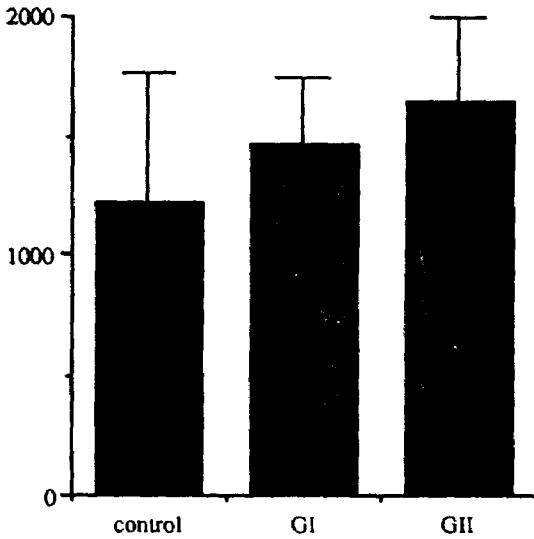


Fig.5. Effect of Dangkiyeumja administration on the ^3H -Deoxy-glucose uptake in cultured mouse lymph node cells. Animals were given the drugs orally for 7 days. The component of administered drugs are the same as Fig.1. The lymphocyte were cultured 72 hours and added 2-deoxy-d-(3H)-glucose. Deoxyglucose uptake was measured by Automatic Sample Processing and Filter Counting System INB-384. Deoxyglucose uptake was in-creased in the G I and G II.

Data show Mean \pm S.E. $p < 0.05$ compared with control.

Con A로 자극하지 않고 72시간 동안 배양한 후 deoxyglucose uptake를 알아본 결과 Fig.5와 같다. 對照群에 있어서는 $1220.4 \pm 542\text{cpm}$ 인데 비해서 G I은 $1460 \pm 285\text{cpm}$, G II는 $1640.8 \pm 359\text{cpm}$ 으로 對照群에 비하여 藥劑를 投與한 마우스군에서 deoxyglucose 吸收量이 증가하였으나 有意性은 認定할 수 없었다(Fig.5).

Con A로 자극하고 72시간 동안 배양한후 deoxyglucose uptake를 알아본 결과 Fig.6과 같다. 對照群에 있어서는 $208.5 \pm 596\text{cpm}$ 인데 비해서 G I은 $5820.2 \pm 325\text{cpm}$ ($P < 0.05$), G II는 $673.8 \pm 218\text{cpm}$ ($P < 0.05$)값으로 對照群에 비하여 모두 有意性 있게 deoxyglucose 吸收量이 증가하였다(Fig.6).

counts per minute

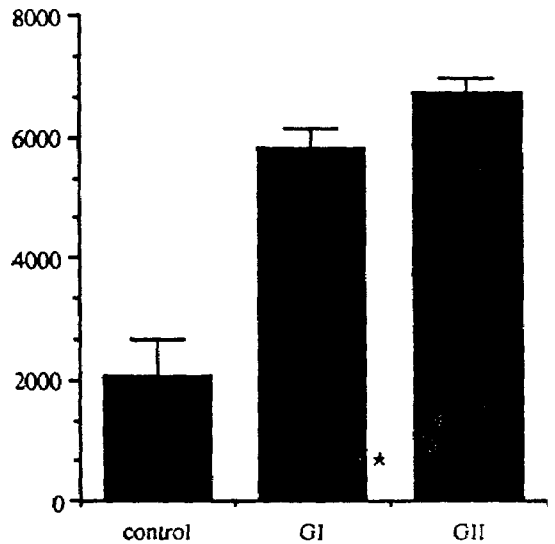


Fig.6. Effect of Dangkiyeumja administration on the ^3H -Deoxyglucose uptake in cultured mouse lymph node cells. Animals were given the drugs orally for 7 days. The component of administered drugs are the same as Fig.1. The lymphocyte were treated with concanavalum A(10ul)at 72hours and added 2-deoxy-d-(3H)-glucose. The lymphocytes were washed 2 times. Deoxyglucose uptake was measured in Automatic Sample Processing and Filter Counting System INB-384. Deoxyglucose uptake was in-creased significantly in G I and G II. Data show Mean \pm S.E. $p < 0.05$ compared with control.

5. 大食細胞의 貪食能에 미치는 影響

當歸飲子の 投與가 BALB/C생쥐의 大食細胞 貪食能에 미치는 影響을 보기 위하여 7일간 檢液을 投與한 마우스에 4.5% Brewre's modified thiogly colale broth를 복강내 注射하여 大食細胞를 誘導한 후 3일째 大食細胞를 분리하여 FITC로 라벨된 polystyrene latex particle (1.88um)과 같이 배양하면서 FCM으로 貪食能을 측정하였던 바, 對照群이 42.60±1.0%인데 비하여 G I은 48.12±1.3%(P<0.05), G II는 55.64±2.7%(P<0.05)로 모두 有意性있게 증가하였다(Fig.7).

mean fluorescent intensity

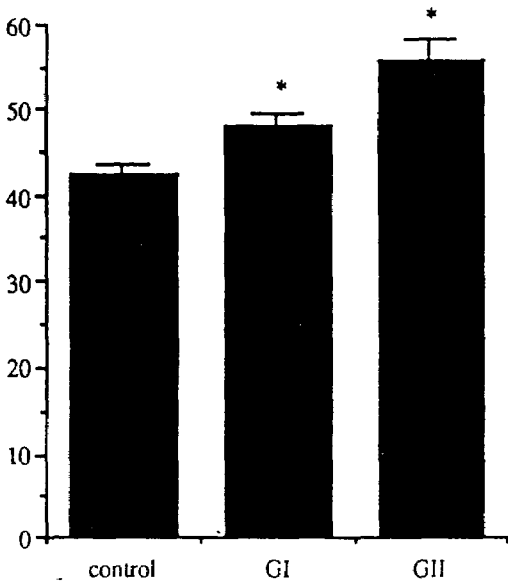


Fig.7. Effects of G I and G II administration on the phagocytic activity in mice. Significant increment of phagocytic activity was shown in mouse groups tre-

ated with G I and G II. Percent phagocytic activity was calculated according to the following formula:

$$\text{Phagocytic activity(\%)} = \frac{TE_0 - TE_{45}}{TE_0} \times 100$$

TE₀ = mean number of fluorescent latex particleeffector cells in 0 min

TE₄₅ = mean number of fluorescent latex particleeffector cells after 45 min incubation.

Data show Mean ± S.E. *p < 0.05 compared with control.

6. 赤血球凝集素價 및 溶血素價에 미치는 影響

BALB/C마우스에 있어서 當歸飲子の 投與가 SRBC에 대한 抗體生成能에 미치는 影響을 알아보기 위하여 SRBC에 대한 凝集素價와 溶血素價를 測定하여 log₂ 값으로 계산하였던 바 Fig.8, Fig.9와 같았다.

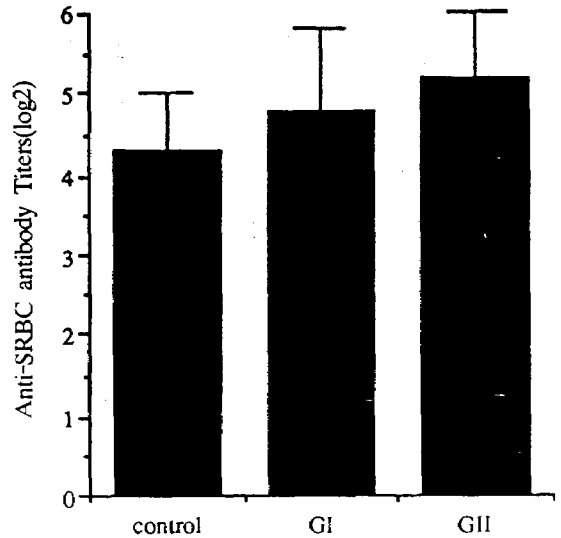


Fig.8. Effect of G I and G II on the hemagglutinin titers. Animals were sensitized with SRBC on day 0 and hemagglutinin titers are measured on day 8. Animals were given orally G I and G II for 7 day before sensitization and maintained for 7 days after sensitization. Data represent the mean of antibody teters±S.E.

凝集素價의 경우 對照群이 4.5 ± 0.9 로 나타났으며, G I은 4.7 ± 1.5 , G2는 5.7 ± 1.8 로 對照群에 비하여 증가하는 傾向은 보였으나 有意性은 認定할 수 없었다(Fig.8).

溶血素價의 경우는 對照群이 4.5 ± 2.5 로 나타났으며 G I은 4.8 ± 1.0 , G2는 5.2 ± 2.3 로 약간 증가하는 傾向은 보였으나 有意性은 認定할 수 없었다(Fig.9).

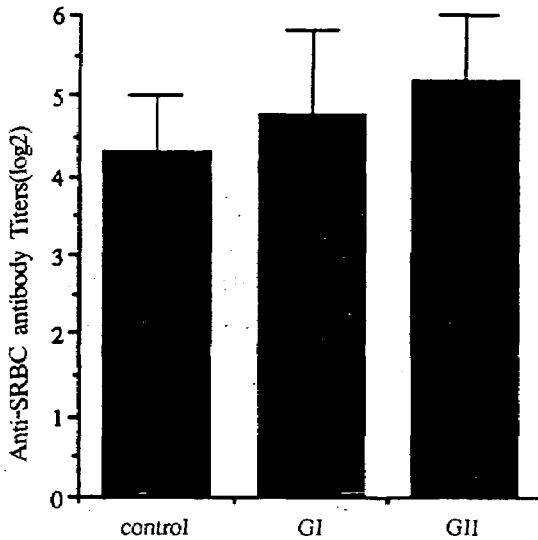


Fig.9. Effect of G I and G II administration on the antibody fomation against SRBC. Animals

were sensitized with SRBC on day 0 and measured hemolysin(HL) titers on day 8. Animals were given orally G I and G II for 7 days before sensitization and maintained for 7 days after sensitization. Data represent the mean of antibody teters±S.E.

IV. 考 察

當歸飲子是 宋·嚴用和의 濟生方(A.D. 1253년)에 처음 收錄된 處方¹²⁾으로 李等^{3,5,16,17)}은 當歸飲으로 別名하였고, 陳等^{11,13,17,18,86,87,88)}은 處方 構成藥材를 減量하여 사용하였다. 또한 實驗藥材 中 何首烏는 赤何首烏를 말하는 것이나, 우리나라에서는 白何首烏를 頻用⁸⁹⁾하고 있으므로 著者任意로 白何首烏를 사용하였다.

當歸飲子를 構成하는 個別藥材의 效能을 살펴보면 當歸는 肝心脾經에 작용하여 補血和血 調經止痛 潤腸通便의 效能이 있고, 白芍藥은 肝脾經에 작용하여 養血斂陰 柔肝止痛 平抑肝陽의 效能이 있으며, 生地黃은 心肝腎經에 작용하여 清熱涼血 生津止渴의 效能이 있으며 川芎은 肝膽經에 작용하여 活血行氣 祛風止痛의 效能이 있고, 何首烏는 肝腎經에 작용하여 能補肝腎 解瘡毒의 效能이 있으며, 荊芥는 肺肝經으로 작용하여 祛風解表 宣毒透疹의 效果가 있으며, 防風은 肺脾膀胱經에 작용하여 祛風解表 勝濕解痙의 效果가 있으며, 黃芪는 脾肺經에 작용하여 補氣升陽 固表止汗 托毒排膿의 效果가 있으며, 百疾藜는 肝肺經에 작용하여 平肝柔肝 祛風明目의 效能이 있으며, 甘草는 十二經에 작용하여 調和諸藥하는 效能⁹⁰⁾이 있어서 熟地黃 대신 生地黃을 加한 四物湯에 瘡疥를 다스리는 藥材로 構成되어 있어 血虛, 血熱, 血燥로 因하여 오래도록 낫지 않는 皮膚癢痒症

에 사용하였다.¹⁷⁾

韓醫學에서는 皮膚病을 癬疥, 瘙痒症, 我掌風等⁹³⁾이라하여 그 原因을 脾經濕熱이나 肺經風毒이 皮膚에 發生한 所致이거나 風熱濕이 肺脾肝經에 鬱滯되거나 血虛, 血熱, 血燥, 或은 暴飲暴食이나 勞役過度로 因한 胃氣가 虛해서 發生한다고 보았다.^{7,87,90,97)}

當歸에 대한 研究로는 吳等⁹⁶⁾이 細胞性 體液性 免疫增強 效果를 報告하였고 梅等⁹¹⁾은 大食細胞와 單核細胞의 活性化를 報告하였다. 生地黃에 대한 研究로는 黃等¹⁰⁰⁾은 地黃類(生地黃, 熟地黃, 乾地黃)가 免疫增強 效果 있다고 報告하였으며 吳等^{98,100)}은 黃芪가 免疫增強 效果가 있다고 報告하였다.

甘草에 관한 研究로는 韓¹⁰²⁾은 免疫調節作用에 대하여 報告하였고, 貝¹⁰³⁾는 甘草의 雙角調節效果를 江¹⁰⁴⁾은 甘草의 P.C.A에 대한 抑制效果를 報告하였다. 이밖에 姜等¹⁰⁵⁾은 白何首烏가 免疫增強效果를, 金, 黃等^{33,34,106)}은 四物湯 十全大補湯의 免疫效果를 報告하였다.

免疫이란 生體가 非自己를 識別하고 排除함으로써 自己를 保護한다는 뜻으로 免疫細胞와 抗原간의 特異한 反應을 나타내어 外部에서 들어 왔거나 內部에 發生한 異物質에 대하여 防禦, 鑑視, 抵抗, 恒常性維持를 한다.^{19,23,107)}

免疫反應은 體液性과 細胞性 免疫反應으로 분류할 수 있는데, 體液性 免疫反應은 抗體의 生成을 血液과 體液內에 分糾하는 反應으로 抗原과 결합하여 毒素을 中和시키거나 細胞表面의 抗原과 結合反應을 하여 大食細胞에 依해 貪食되게 하거나 輔體에 依해 溶解되기 쉽게 만든다. 細胞性 免疫反應은 感作된 림프구를 생산하여, 이를 細胞表面에 있는 受容體와 抗原이 相互作用을 하게 하는 反應으로 臟器移植時 拒否反應을 나타내게 하거나 바이러스, 眞

菌, 細菌에 대하여 抵抗을 하게한다.¹⁰⁷⁾ 따라서 免疫機能은 微生物의 侵入 및 增殖의 抑制를 하는 防禦機能 老衰細胞의 豫防, 變異細胞 出現에 대한 監視機能으로 볼 수 있다. 이때 微生物의 侵入과 增殖의 抑制를 하는 防禦機能이 異常으로 亢進되면 過敏性을 나타내게된다.

19-23,107)

過敏性은 종종 알레르기라 表現하는데 生體가 同一한 抗原에 되풀이 接觸함으로써 그 抗原에 대하여 첫번째에 認定되지 않았던 異常한 反應을 일으켜 生體에 도리어 傷害를 입히는 경우이다.¹⁰⁸⁾ 알레르기는 I. II. III. IV. V. 型으로 分類할 수 있는데, I型은 IgE와 抗原의 結合으로 化學的 媒介物質이 遊離되어 일어나는 型이며, II型은 抗體가 抗原에 附着한 後 補體가 作用하여 溶解反應을 일으키는 型이며 III型은 抗原抗體複合體를 形成하여 局所의 組織障礙나 炎症을 일으키는 型이며, IV型은 細胞性 免疫에 該當하여 T임파구에 依하여 媒介되는 型이며, V型은 甲狀腺機能亢進症의 原因이 되는 型으로 분류할 수 있다.^{109,110)}

韓醫學에 있어서의 免疫이란 概念은 明朝의 免疫類方²⁴⁾에 最初로 記載되어 있으며 免疫에 對한 內容으로는 《黃帝內經》中 “不治已病”¹¹¹⁾에서 찾아볼 수 있었는데 《刺法論》에서 “五疫之至 皆相染易 無問大小 病傷傷邪 正氣存內 邪不可干”²⁵⁾라 하여 疾病의 成立過程中에서 生體의 抵抗力을 重要하게 여겼음을 알 수 있었다 위에서 말하는 氣는 眞氣와 同一한 概念.^{24,26,32)}으로 人體 生命活動의 原動力이며 生命活動을 維持시켜 주는 基本的인 物質이라 볼 수 있다. 또한 邪는 人體의 內外環境에 存在하는 各種發病因子를 總稱²⁹⁾한 것으로 飲食, 勞倦, 瘀血, 痰飲 等を 가리킨다고 볼 수 있다.^{29,32)}

또한 알레르기에 대해서도 巢의 《巢氏諸病源

候論)¹¹¹에 잘 나타나 있는데” 漆有毒 人有稟性畏毒 但見漆便中毒 亦有性者耐者 終日燒煮 境不爲害也”라고 하여 漆에 대한 過敏反應과 體質差異를 示唆하고 있고 載¹¹²는 “有人一生不可食 鷄肉及 鱈魚等物 才食則丹隨發”이라고 하여 植物에 의한 過敏反應을 暗示하고 있어 西洋醫學에서 말하는 알레르기 反應과 類似하다고 볼 수 있다.

個體의 免疫系를 이루는 細胞는 Lymphocyte, 貪食細胞등 으로 이루어져 있지만 이러한 細胞들이 모여 胸腺, 脾臟, 임파절 및 各 臟器組織의 網狀內皮系등 組織이나 器官을 이루고 있다. 免疫系가 수행하는 일은 防禦機能으로 外部에서 침입하는 微生物이나 內部에서 發生하는 變異細胞로 부터 個體를 保護하는 作用을 擔當한다.^{113,114} 그러나, 外部에서 들어오거나 內部에서 發生한 非自我的인 要素가 增殖을 하지 않는 植物의 꽃가루나 動物의 털 및 正常細胞일때 免疫系가 이들에 反應할 경우 前者는 過敏性疾患를 誘發하고 後者는 自家免疫性 疾患를 招來하게 된다.

免疫系에 의하여 招來되는 過敏性疾患이나 自家免疫性 疾患도 그 機轉에 있어서는 免疫系가 보이는 防禦機能과 內容에 있어서 差異는 없고 다만 免疫學的 攻擊의 대상에 따라서 결정 되는 바 前者의 경우는 繁殖하지 않는 物質이거나 自我에 대한 攻擊의 結果 招來되는 것이며, 後者의 경우는 個體生生存을 威脅하는 巖細胞 혹은 病原微生物의 경우이다.^{115,116} 免疫系에 의하여 攻擊의 對象으로 간주되어지는 過程은 주로 Lymphocyte중 T 細胞에 의하여 非自我로 認識하는 경우로서 T 細胞는 細胞表面에 非自我를 認識하는 受容體와 抗原傳達細胞가 되어 있으며, 이때 T 細胞에 의하여 影響을 미치는 細胞는 주로 貪食細胞로서 T細胞의

指示에 따라 이러한 細胞들의 活性이 決定된다. T細胞나 B細胞가 이루는 림프구는 抗原을 認識하고 免疫反應을 主導하며 免疫反應의 特徵인 特異성과 記憶性등을 보이기 때문에 Lymphocyte에 의한 免疫反應을 特異的 免疫反應이라고 命名되었으며 血液의 단구, 호염구, 호산구 및 호중구나 肝組織의 쿠퍼細胞, 皮膚組織의 랑게르한스細胞, 骨髓의 히스티오細胞 등 組織속의 大食細胞는 異物質을 處理함에 있어서 非特異的이며 恒常一定하기 때문에 이러한 貪食細胞에 의하여 수행되는 免疫反應은 非特異的, 先天的 免疫反應이라고 命名되었다.^{117,118}

그러므로 免疫系가 皮膚 어느한곳에 異物質이 존재한다고 Lymphocyte를 통하여 인식하면 Lymphocyte는 림포카인을 분비하여 많은 非特異的 免疫反應을 담당하는 細胞들이 異物質의 주위에 모이게 하고 그곳에 모인 細胞들이 세로토닌, 히스타민등 血管에 作用하는 物質들을 分泌하게 어느한곳에 異物質이 존재한다고 Lymphocyte를 통하여 認識하면 Lymphocyte는 림포카인을 分泌하여 많은 非特異的 免疫反應을 담당하는 細胞들이 異物質의 주위에 모이게 하고 그곳에 모인 細胞들이 세로토닌, 히스타민 등 血管에 作用하는 物質들을 分泌하게 하므로 皮膚에는 免疫由來炎症 反應이 초래되어 搔痒症등 이나 浮腫등을 誘發시키는 것이다.

^{119,120}

Lucigenin에 의한 大食細胞 反應酸素 中間物質 測定은 對照群 비해 實驗群 I, II에서 모두 減少되었고(Fig.1), Luminol에 의한 測定은 實驗群 II가 顯著하게 減少되었으며(Fig.2), DNFB 感作에 의한 接觸性 過敏反應의 抑制率은 實驗群에서 有意性 있게 抑制되어서(Fig.3), 皮膚損傷 炎症反應인 遲延性을 抑制시켰다.

Rosette形成細胞數測定은 對照群에 비해 實驗

群 I, II에서 모두 增加되었으며(Fig.4). Lymphocyte代謝의 Deoxyglucose吸收量은 Con A로 刺戟하지 않은 것은 對照群에 비해 增加하였으나 有意性은 認定할 수 없었고(Fig.5), Con A로 刺戟한 것은 實驗群 I, II에서 顯著하게 增加되어 Lymphocyte代謝를 促進시켜 非特異的 免疫反應 亢進시켰다. 大食細胞 貪食能은 螢光 물질을 使用하여 測定하여 對照群에 비해 實驗群 I, II에서 增加되어(Fig.7), 大食細胞의 異物質 處理가 增加되었다. SRBC에 대한 凝集, 溶血素價는 對照群에 비해 實驗群 I, II에서 增加하는 傾向을 보였으나 有意性을 認定할 수 없었다(Fig.8, 9).

본 實驗에서 當歸飲子를 投與한 마우스의 特異的 및 非特異的 免疫反應에 관여하는 여러 細胞들의 機能들을 調查하여 본 結果 當歸飲子의 投與는 組織損傷을 초래하는 마지막 段階인 貪食細胞의 反應酸素 中間物質의 形成을 抑制시켜(Fig.1, 2) 過敏反應은 結局炎症反應을 통하여 組織에 損傷을 招來하며, 이러한 炎症反應의 殺菌能力, 혹은 組織損傷은 炎症細胞에서 發生하는 反應酸素 中間物質에 의하여 存在되며^{121, 122)} 炎症反應이 組織을 損傷시킬때, 反應酸素 中間物質을 抑制하거나, 이미 만들어진 反應酸素 中間物質, Peroxidase등이 迅速히 處理하면 炎症損傷이 減少된다 하였다.^{123, 124)} 그 結果 초래되는 皮膚損傷 炎症反應인 遲延性 過敏反應을 抑制(Fig.3)시켰지만 그의 免疫細胞들의 機能엔 影響이 없거나 오히려 機能들을 亢進시켰다.

이는 當歸飲子의 投與가 搔痒症에도 效果가 있지만 虛血에도 效果가 있어 補血作用이었다고 報告된 것과 相應한 結果로써 當歸飲子의 投與는 마우스 脾臟 細胞의 Rosette形成細胞數를 增加하였고(Fig.4), Lymphocyte의 代謝를 促

進시켰으며(Fig.5, 6), 大食細胞의 貪食能도 向上시켰고(Fig.7), 抗體形成에도 약간 亢進시킨 結果(Fig.8, 9)를 보였다. 이렇게 해로운 免疫反應 自體는 抑制시키되 그 免疫反應을 擔當하는 免疫細胞 自體의 機能을 上昇시키는 當歸飲子의 效果는 免疫系가 組織損傷을 초래할시 마지막 段階에서 作用하는 superoxide나 hydrogen peroxide와 같은 反應酸素 中間物質의 形成을 抑制하므로 이러한 機轉으로 항알러지 作用이 있으면서 補血作用을 동시에 보이는 것으로 思料된다.

해로운 免疫反應을 抑制시키기 위하여 開發된 많은 免疫抑制製는 免疫反應 뿐만아니라 免疫細胞를 死滅시키기 때문에 免疫抑制製를 投與하여 개체에 해로운 免疫反應이 抑制되면서 同時에 免疫機能의 全般의인 抑制는 免疫抑制製의 投與후에 초래되는 感染症 등의 後遺症을 誘發시키는 副作用이 따르게 되기 때문에 當歸飲子와 같이 알레르기성 질환으로 인한 해로운 免疫反應은 抗原이 존재할시만 一時的으로 抑制시키되 免疫系의 細胞들에는 影響이 없거나 이로온 免疫調節작용을 보이는 藥劑의 開發 및 藥理 起源의 探究는 중요한 臨床的 意義가 있을 것으로 思料된다.

V. 結 論

當歸飲子 水抽出液의 投與가 생쥐의 生體내 免疫反應과 試驗管内 免疫細胞의 機能에 미치는 影響을 究明하기 위하여 接觸性 過敏反應 및 抗體形成能和 大食細胞의 貪食能 및 反應酸素 中間物質 生成能和 Lymphocyte의 Rosette形成能和 deoxyglucose 處理後의 代謝能을 測定하였던 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 當歸飲子 投與는 大食細胞의 貪食能을 增加시켰다.
2. 當歸飲子 投與는 大食細胞의 反應酸素 中間物質 形成能을 抑制시켰다.
3. 當歸飲子 投與는 脾臟細胞가 綿羊赤血球와 이루는 Rosette形成能을 增加시켰다.
4. 當歸飲子 投與는 생쥐가 綿羊赤血球에 대하여 만드는 抗體 生成能에는 影響을 미치지 아니 하였다.
5. 當歸飲子 投與는 皮膚에 過敏反應을 초래하는 DNFB에 의한 遲延性 過敏反應을 抑制시켰다.
6. 當歸飲子 投與는 Lymphocyte를 렉틴으로 刺戟한 후 觀察되는 代謝를 亢進시켰다.

이상의 實驗 結果로 보아 當歸飲子 水抽出液은 免疫 能力을 增加시키고, 過敏反應을 抑制시키는 것으로 보아 臨床에서 免疫能力 低下에 속하는 疾患, 알레르기 疾患 등에 應用될 수 있을 것을 思料된다.

參 考 文 獻

1. 嚴用和：嚴氏濟生方，人民衛生出版社，北京，卷二，p.19, 1980.
2. 嚴用和：濟生方，中國醫學大系 第十一卷，麗江出版社，p.522, 1985.
3. 吳克潛：古今醫方集成，大衆書局，上海，p.1856, 1980.
4. 浙江省中醫研究所：醫方類聚，人民衛生出版社，北京，第八卷，p.122, 1982.
5. 李 槿：醫學入門，翰成社，서울，p.553, pp.472-473, 1982.
6. 丹波元胤：皇漢醫學叢書，大新書局，方劑辭典，p.141, 1975.
7. 李用卒：症治科補，旋風出版社，臺北，p.170-172, 1976.
8. 陳夢雷編：醫部全錄，成輔社，外科八卷，서울，p.333.
9. 方 賢：奇效良方，商務印書館，香港，p.989, 1977.
10. 江克明 包明蕙編：簡明方劑辭典，上海科學技術出版社，上海，p.413, 1989.
11. 吳廉外：醫宗金鑑，大成文化社，서울，pp.406-407, 1984.
12. 中醫大辭典編輯委員會：中醫大辭典，人民衛生出版社方劑，北京，pp.205, 1984.
13. 王肯堂：六科準繩(四卷)，新文豐出版有限公司，臺北，p.380, 1971.
14. 中醫研究院等：中醫名詞述語辭典，商務印書館，臺北，pp.420-421, 1979.
15. 龔廷賢：醫林狀元濟世全書，新文風出版公司，臺北，p.849, 1982.
16. 危亦林：世醫得效方，人民衛生出版社，北京，p.640, 1990.
17. 具本弘：새漢方處方 解說，保健新報，서울，pp.91-95, 1985.
18. 廉泰換：漢方處方 解說，東亞出版社，서울，p.245, 1967.
19. 이중달譯：그림으로 설명한 病理學，高麗醫學，서울，pp.99-124, 1990.
20. 서울대학교 의과대학：면역학，서울대학교 출판부，서울，p.1, 1989.
21. 李淵台：最新免疫學，集文堂，서울，p.33, 1985.
22. 閔昌弘：最新微生物學，高文社，서울，pp.79-137, 1987.
23. 鄭憲鐸外：免疫學入門，高文社，서울，pp.9-11, p.443, 1988.
24. 沈承抗：中醫與免疫，浙江中醫學院報，14(2)，p.6, 1990.

25. 王氷註：黃帝內經，高文社，素問，서울，pp.91, 166, 229, 236, 1977.
26. 蔡禹錫：免疫疾患의 韓方概念과 治療에 關한 文獻의 考察，大韓韓醫學會誌，第十一卷第二號，서울，pp.54-91, 1991.
27. 趙鐘寬：免疫에 關한 東洋醫學의 考察，서울，pp.19-23, 1987.
28. 載新民：中醫免疫學，啓業書局，臺北，pp.1-30, 1985.
29. 劉正才外編：中醫免疫，重慶出版社，中國，pp.1-2, pp.63-64, 1983.
30. 嚴宗正：正邪論新釋，新中醫(6)，pp.5-6, 1984.
31. 宋驚永：中醫病因病機學，人民衛生出版社，北京，pp.64-66, 1987.
32. 鄭遇悅外：韓方病理學，圓光大學校韓醫科大學病理學教室，이리，pp.94-106, 1986.
33. 金在燮：十全大補湯 煎湯 엑기스가 생쥐의 細胞性 및 體液性 免疫反應에 미치는 影響，圓光大學校大學院，이리，1984.
34. 黃忠淵：十全大補湯加鹿茸이 마우스의 免疫反應에 미치는 影響，圓光大學校大學院，이리，1989.
35. 元鐘勳 金德坤 鄭奎萬：補兒湯이 免疫反應에 미치는 實驗的研究，大韓小兒科學會，Vol.1.No.1.，서울，pp.13-22, 1986.
36. 金德鎬 金秉雲：歸茸湯이 免疫反應에 미치는 實驗的研究，大韓韓醫學會誌第六卷第二卷，서울，pp.55-63, 1985.
37. 禹貞淳：葛根解肌湯이 마우스의 免疫反應에 미치는 影響，圓光大學校大學院，이리，1987.
38. 朴恩貞 鄭奎萬：歸脾湯과 歸脾湯加味方이 마우스의 過敏反應 및 免疫細胞機能에 미치는 影響，大韓韓醫學會誌第十一卷第二號，서울，pp.149-169, 1991.
39. 서용석：선방활명음이 마우스 로켓 形成 및 抗體 生成에 미치는 影響，圓光大學校大學院，6集，이리，1989.
40. 趙鍾寬：清肝湯이 肝臟 保護와 微細 循環에 대한 免疫反應에 미치는 影響，慶熙大學校大學院，서울，1985.
41. 高雲彩：曼陀羅花 및 曼陀羅花子 煎湯液이 마우스의 免疫細胞機能에 미치는 影響，圓光大學校大學院，이리，1990.
42. 崔栖滢：生肝湯과 그 分割이 肝臟 保護 血小板 凝集能力 一般免疫反應에 미치는 影響，慶熙大學校大學院，서울，1985年.
43. 宋昊竣：黃蓮解毒湯이 綿羊赤血球에 대한 免疫反應에 미치는 影響，圓光韓醫大論文集，第二號，이리，pp.195-206, 1984.
44. 李東炫：防風通聖散 및 防風通聖散加味方이 抗 알레르기와 免疫反應에 미치는 影響 慶熙大學校大學院，서울，1988.
45. 鄭東郁：加味通窺湯이 생쥐의 免疫反應에 미치는 影響，慶熙大學校 大學院，서울，1987.
46. 金英信：清肌散 및 清肌散加味方의 항 알레르기와 免疫反應에 대한 實驗的研究 慶熙大學校 大學院，서울，1990.
47. 金英台：蘇子降氣湯 및 蘇子導痰降氣湯이 I型 및 II型알레르기 反應과 肺血栓塞에 미치는 影響에 關한 比較研究，慶熙大學校 大學院，서울，1988.
48. 李在媛：仙方敗毒湯이 抗알레르기에 미치는 影響，慶熙大學校 大學院，서울，1989.
49. 俞太燮：荊芥蓮翹湯의 抗알레르기 作用에 대한 實驗의 效果，慶熙大學校 大學院，

- 서울, 1990.
50. 崔錫鳳：麥冬湯 및 加味麥冬湯의 效能에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校 大學院 서울, 1989.
 51. 高炳熙 宋一炳：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 論文集, 서울, pp. 193-216, 1986.
 52. 崔政和：韓國產 靈芝煎湯液의 마우스의 免疫細胞機能에 미치는 影響, 圓光大學校 大學院, 이리, 1990.
 53. Baehner RL. Murmann SK. Davis J. and Johnson RB: The role of superoxide anion and hydrogen metabolic reaction. *J Clin invest* 56:P571,1975.
 54. Sagone AL Jr, Mendelson DS, and Met EN: The effect of sodium azide on the chemiluminescence of granulocytes. Evidence for the generation of multiple oxygen radicals. *JLABCLIN MED*89:p.1333,1977.
 55. Misra HP and Firidovich I: Superoxide dismutase and oxygen enhancement of radiation lethality. *Arch Biochem Biophys* 176:577,1976.
 56. J. Scholmerich, R Andreesen, Bioluminescence and chemiluminescence, Proceedings of the IV International Bioluminescence and chemiluminescence symposium, New York, pp.3-12. 1986.
 57. Chung, H.T., Samlowski, W.E., and Daynes, R.A.: Modification of the murine immune system by glucocorticosteroids of circulating lymphocytes. *Cell. Immunol.*, 101:571-585, 1986.
 58. Kakayuki, H. et al.: Ferritin selectively suppresses delayed-type hypersensitivity responses at induction or effector phase. *Cell. Immunol.*, 109:75-78, 1987.
 59. Lynch, D.H. Daynes, R.A.: The effects of ultraviolet irradiation on the generation of anti tumor cytotoxic effector cell response in vitro. *J. Immunol.*, 127:1163, 1981.
 60. Mekori, Y.A. et al.: Inhibition of delayed hypersensitivity reactions in mice by colchicine: Mechanism of inhibition of contact hypersensitivity in vivo. *Cell. Immunol.*, 120:330-340, 1989.
 61. Mituoka, A. et al.: Delayed hypersensitivity in mice induced by intravenous sensitization with sheep erythrocyte evidence for tuberculin type delayed hypersensitivity of the reaction. *Immunol.*, 34:363, 1978.
 62. Miller, T.E. et al.: Immunopotential with BCGII, modulation of the response to sheep red blood cells. *J. Nat. Cancer Inst.*, 51:1669, 1973.
 63. Mitsuoaka, A. et al.: Delayed hypersensitivity in mice induced by intravenous sensitization with sheep erythrocytes: evidence for tuberculin type delayed hypersensitivity of the reaction. *Immunology*, 34, 363, 1978.
 64. Claman, H.N., Chaperon, E.A. and Triplett, R.F.: Thymus-marrow Cell Combination Synergism in antibody Production, *Soc. Exp. Biol. Med. Proc.* Vol 59, pp.83-87, 1966. or:1167, 1966
 65. Davis, A.J.S. et al.: The failure of thymus-derived cells to produce antibody. *Transplantation*, 5:222, 1967.

66. Nowotny, A.:Antigen-Antibody interactions in basic exercises in immunochemistry, Springer, Verlag Bertin Heidelberg, New, York., pp.217-271, 285-287, 1979.
67. Sells, S.:Immunology, immunopathology and immunity, Hagerstown, Maryland, Harper & Row pub., pp.144-171, 1980.
68. Zaalberg, O. B.:A simple method of detection single antibody forming cells, Nature, 202:1231, 1964.
69. Leslie Hudson et al:Practical Immunology, Oxford, pp.49-54,1989.
70. Tizardcc:Immunology, New york, pp.114-119, 1988.
71. Ivan M. Roitt et al:Immunology, London, pp.25.5-25.7,1985.
72. Visser J.M and Vom Den Engh G.J:Immunofluorescence measurements by flow cytometer. in immunofluorescence technology, selected theoretical and clinical aspects(eds, wick G. Traill K.N. and Schauenstein K.). P. 95. Elsevier Biomedical Press, 1982
73. Austyn, J.M. and Gordon, S.:F4/80 monoclonal antibody directed specifically against the mouse macrophage. Eur.J.Immunol.:805-815,1981.
74. Hume, D.A. Perry, V.H. and Gordon, S.:The mononuclear phagocyte system of the mouse defined by immunohistochemical localization of antigen F4/80. Macrophages associated with epithelia Anant. Rec., 210:503 1984.
75. Hume, D.A., Loutit,J.F. and Gordon,S.:The mononuclear phagocyte system of the mouse defined by immunohistochemical localization of antigen F4/80. Macrophages of bone and associated connective tissue.J.Cell.Sci.,66:189-194,1984
76. Shepherd,V.L., Comphell, E.J.,Senior,R.M. and Stahl,P.D.:Characterization of the manose fucosyl receptor on human mononuclear phagocytes. J. Res., 32:423-432, 1982.
77. Stewart, C.C. and Lin. H.:Macrophage growth factor and it's relationship to colony stimulation factor, J. Reticuloendothel. Soc., 23:269, 1978.
78. Suny, S.S.J., Nelson, R.S. and Silverstein, S.C.:Yeast mannose inhibits binding and phagocytosis of zymosan by mouse peritoneal macrophages.J. Cell.Biol 106, 1983.
79. Walker, W.S., Hester, R.B. and Beelen, R.H.J.:Persistent expression of IgA-antigen on a subpopulation of murine resident peritoneal macrophages. Cell. Immunol., 79:125, 1983.
80. Winter, M. and Buschmann, H.G.:Measuring phagocytic capacity in polymorphonuclear cell of the pig a comparison between different assay, J. Vet. Med., 834:504, 1987.
81. Winy, E.J., Gardner,I.D.,Ryminy. F.W. and Reminyton,J.S.:Dissociation of effector functions in populations of activated macrophages. Nature, 268:642, 1977.
82. Biozzi, G., Stiffel, C., Mounon,D., Bouthiler, Y. and Decrusefound. C.:A Kinetic Study of Antibody producing Cells in the Spleen of Mice Immunized Intravenously with sheep erythrocytes, Immunology, 14:7, 1968.
83. Miller, T.E. et Al:Immunopotential with

- BCG II, modulation of the response to sheep red blood cells, J. Nat. Cancer Inst., 51:1669, 1973.
84. Mitsuoka A. et al: Delayed hypersensitivity in mice induced by intravenous sensitization with sheep erythrocyte: evidence for tuberculin type delayed hypersensitivity of the reaction. Immunology, 34, 363, 1978.
 85. Avrameas, S., Bach, J.F and Preudhomme, J.L: Antibody formation at the cellular level in immunology, John Wiley & Sons Inc., New York, pp.508~513, 1982.
 86. 陳實功：外科正宗，旅風出版社，臺北，p. 541, 1976.
 87. 許浚：東醫寶鑑，南山堂，서울，p. 568, 1987.
 88. 蔡炳允：漢方外科，高文社，서울，p. 307, 1983.
 89. 辛民教：臨床本草學，南山堂，서울，pp. 169-170, 175-177, 219-221, 297-298, 521-523, p. 659, 1986.
 90. 章虛谷：醫門棒喝，東南出版社，서울，p. 291-294, 1985.
 91. 巢元方：諸病源候論 卷三十五，昭人出版社，北京，pp.1-22, p.19.
 92. 王環隱：太平聖惠方(下)，人民衛生出版社，北京，pp.2006-2011, 1982.
 93. 陳言：三因極一病症方論，人民衛生出版社，北京，p. 213, 1983.
 94. 虞搏：醫學正傳，成輔社，서울，p. 58, 1986.
 95. 趙佶：聖濟總錄(下編)，人民衛生出版社，北京，p.2278, 1982.
 96. 歐陽琦：症治概要，人民衛生出版社，北京，pp. 75-89, 1982.
 97. 魏之琇：續名醫類安，廣福彩色印刷有限公司，臺北，p. 895-897, 1979.
 98. 吳旻哲 安圭錫 金光湖：黃嗜 및 當歸의 免疫效果에 關한 研究，慶熙大論文集，pp. 343-354, 서울，1986.
 99. 梅其炳等：中國當歸藥理進展，中草藥15(8)，臺北，pp.43-45, 1983.
 100. 黃永明：生地黃 乾地黃 熟地黃이 細胞性 免疫反應 및 體液性 免疫性에 미치는 影響，慶熙大學校 大學院，서울，1986.
 101. 張敬善：人蔘과 黃嗜이 白鼠의 遲延性過敏反應 및 抗體形成에 미치는 影響，圓光大學校 大學院，이리，1988.
 102. 韓宗鉉：甘草의 免疫調節에 關한 研究，全州 又石大學大學院，전주，1990.
 103. 貝潤浦：對中藥雙角 調節作用探討，雲南中醫雜誌，2，中國，pp.44-49, 1982.
 104. 江田照英等：抗原 抗體反應，日藥理誌，66，日本，pp.366-378, 1970.
 105. 姜錫峯 安圭錫 金光湖：白何首烏와 黃精이 細胞性 및 體液性 免疫反應에 미치는 影響，慶熙大論文集，서울，pp. 367-376, 1986.
 106. 金聖勳：四君子湯 및 八物湯이 Prednisolone으로 誘發된 생쥐의 免疫反應低下에 미치는 影響，慶熙大學校 大學院 서울，1987.
 107. 大韓病理學會編：病理學，高文社，서울，pp.183-202, 1990.
 108. 鹽川優一 宮本昭正：內科 Q&A 一性疾患 膠原病，金原出版社，東京，pp.1-97, 1984.
 109. 鄭奎萬：알레르기와 漢方，第一號，서울，pp.15-17, 60-61, 1990.
 110. 河台患本問光頭：感染 一免疫病學，醫學

- 書院，東京，pp.26-42, 1986.
111. 張隱庵 馬元臺註：黃帝內經，臺聯國風出版社，素問，臺北，p.15, 1977.
 112. 載思恭：證治要決，傳方，中醫免疫思想及成就，中醫雜誌(25)11，中國，p56, 1984.
 113. Eli Benjamini:Immunology A Short Course, New York, pp.1-10. 1987.
 114. Ivan Roitt:Immunology, New York, pp.2.1-2.13.1985.
 115. Eli Benjamini:Immunology A Short Course, New York, pp.205-231.1987.
 116. Tizard:An Introduction Immunology, New York, pp.441-445,1988.
 117. Ivan Roitt:Immunology, New York, pp.1.1-7,1985.
 118. William E. Paul:Fundamental Immunology, New York, pp.21-28,1984.
 119. Bainton, D.F.:Cell Biology of Inflammation, New York, pp.1-26,1980.
 120. Waksman, B.:Clinical Immunology, Philadelphia, pp.173-218,1980
 121. Arthur. M.J.P., Kowalski-Saunders, P., Gurney, S., Tolcher, R., Bull, F.G. and Wright, R.Reduction of ferricytochrome C may underestimate Superoxide production by monocytes, J.Immuno.Meth., 98, pp.63-69,1987.
 122. Kitagawa, S., Takaku, F., and Sakamoto
 123. Mccord, J.M., Crapo, J.D. and Fridovich, I.:Superoxide dismutase assays:a review of methodology. In superoxide and superoxide dismutase, 1st edn.(eds. Michelson. A.M. Mccord, J.M. and Fridovich I.). p.1.
 124. Rossi, F., Zahucchi, G. and Romeo, D.:Metabolism of phagocytosing mononuclear phagocytes, In Mononuclear phagocytes in Immunity, Infection and pathology 1st(ed. van Furth, R.), Blackwell sci., London, p.441, 1975.

ABSTRACT

Effects of Dangkiyeumja(當歸飲子)Water Extract of anti-allergic responses and on the Functions of Murine Immunocytes

This study were done to know the effects of Dangkiyeumja on the in vivo and in vitro immune responses of mice. The recipes of Dangkiyeumja used in this study enhanced such cellular functions of immunocytes as phagocytic capacity of macrophages, rosett-eforming abilities of splenocytes and metabolic activities of lymphocytes. However, the same recipes decreased the formation of such reactive oxygen intermediates(ROI) as superoxide and hydrogenperoxide from the macrophages. The effects of the same recipes on the in viro immune responses was suppressive on the cellular immune response(CIR)measured by delayed-type hypersensitivity against dinitrofluorobenzene and mildly enhancing for the humoral immune response measured by antibody production against sheep red blood cells.

The results of this study could be summarized as follow:

1. Administration of Dangkiyeumja enhanced the phagocytic activity of the murine macrophage.
2. Administration of Dangkiyeumja decreased the formation of ROI in the murine macrophage
3. Administration of Dangkiyeumja increased the number of the splenic rotte forming cells in the mouse.
4. Administration of DangKiyeumja did not effect the antibody production against sheep red blood cells.
5. Administration of Dangkiyeumja depressed the delayed-type hypersenitivity against dinitrofluoro benzene in the mouse.

The result of this study suggest that Dangkiyeumja could ameliorate the hypersensitivity reactions by reducing the formation of ROI and decreasing the CIR without affecting the other functions of immunocytes.