

# 薏苡仁의 投與가 마우스의 細胞性 및 體液性 免疫機能에 미치는 影響

우 영은\* · 김 형균\* · 송 봉근\* · 이 언정\*

## Effects of *Coicis Semen* on the Immune Responses in the Mouse

Young-Eun Woo, Hyeong-Kyun Kim, Bong-Keun Song, Eon-Jeong Lee  
Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

*Coicis Semen* is one of the oriental medicine that has been used for the treatment of the diseases such as pulmonary abscess, periappendicular abscess and wart since ancient times. However, the mechanism of the action of the drug is not well studied. This study was done to investigate the effects of *Coicis Semen* on the host defence mechanism. Effects of *Coicis Semen* on the immune responses were analysed by measuring the contact hypersensitivity, hemagglutinin, hemolysin and rosette formation, cytotoxicity, and reactive oxygen intermediates production.

As the results, water extract of *Coicis Semen* administration enhanced the antibodies (hemagglutinin and hemolysin) formation and the appearance of rosette forming cells of the spleen. Also *Coicis Semen* increased the allogeneic immune response in the mouse, showed cytotoxic activity against human leukemia cell line(K562) and decreased the contact hypersensitivity against dinitrofluorobenzene.

Also administration of *Coicis Semen* slightly increased NK cell activity and enhanced the production of such reactive oxygen intermediates as superoxide and hydrogen peroxide from the macrophages *in vivo* and *in vitro*.

The above results demonstrate that *Coicis Semen* has enhancing effects on cellular and humoral immune responses against disease.

【Key words】 *Coicis Semen*, contact hypersensitivity, rosette forming cell, allogeneic immune response, cytotoxic activity, reactive oxygen intermediates,

## I. 緒 論

薏苡仁(*Coicis Semen*)은 禾本科(벼과 ; Gramineae)에 속한 1年生 草本인 염주 *Coix lachryma-jobi* L. 및 울무 *C. lachryma-jobi*(L.) var. *mayuen*(Roman.) Stapf.의 성숙한

\* 원광대학교 한의과대학 내과학 교실

種仁을 건조한 것으로<sup>1,2)</sup> 性は涼하고, 味는甘淡하며, 利水滲濕, 除濕痺, 清熱排膿, 祛風勝濕, 健脾益胃, 補肺 등의 효능이 있어 임상에서 흔히 肺痿, 水腫喘急, 肺癰, 腸癰, 小便短赤, 沙石熱淋, 風濕痺痛, 筋脈拘攣, 脾虛泄瀉, 偏平疣, 消渴 등에 응용되고 있다<sup>3,4)</sup>.

薏苡仁의 주요 성분으로는 leucine, lysine, arginine, tyrosine 등의 아미노산과 coixol, coixenolide, phytin, triterpenoid, vitamin B<sub>1</sub>,  $\beta$ -sitosterol 등이 있다<sup>5-7)</sup>.

薏苡仁의 免疫과 관련된 작용으로는 胸腺을 萎縮시키고 副腎皮質機能을 촉진시킨다 했으며, 細胞性 및 體液性 免疫을 증강시키며, 抗腫瘍作用 등이 있다<sup>8)</sup>.

免疫이란 生體가 자신의 구성 성분과 전혀 다르다고 認知하는 물질에 대하여 일어나는 일종의 반응을 말하는 것으로 自己와 非自己를 식별하여 외부로부터 침입하는 미생물 또는 同種의 조직이나 체내에서 생긴 불필요한 산물등을 非自己인 抗原으로 알고 특이하게 반응하여 抗體를 생성하여 제거함으로써 그 個體의 정상상태와 恒常性을 유지하는 것이다<sup>9)</sup>.

西洋醫學의 免疫的 개념인 “自己”와 “非自己”는 東洋醫學에서 볼 때 “正氣”와 “邪氣”로 비교할 수 있는데 正氣는 體內的 모든 抗病能力을 말하며 臟腑, 經絡, 營衛氣血의 정상적인 생리기능을 포괄하고, 邪氣는 모든 病因素의 총칭이며 六淫之邪, 體內的 陰陽失調에 의한 病理改變, 病理產物 등이 이에 속한다<sup>10)</sup>.

韓醫學에서는 薏苡仁이 예로부터 肺癰, 腸癰, 熱淋 등의 感染性 疾患 및 風濕痺痛의 膠原性 疾患, 偏平疣와 같은 virus질환 등에 응용되어 왔고 근래 腫瘍 治療에도 사용되고 있으므로 薏苡仁이 免疫反應 및 抗癌作用에 관여할 것이라 사료되어 이를 규명하고자 다음과 같은 실험을 실시하였다.

본 실험에서 저자는 薏苡仁이 마우스의 細胞性 및 體液性 免疫機能에 미치는 영향을 알기 위하여 溶血素價와 凝集素價, rosette 形成細胞數, 同種抗原에 대한 免疫反應, 接觸性 過敏反應 등을 조사하였다. 또한 薏苡仁이 抗癌作用에 미치는 영향을 알기 위하여 自然致死細胞의 活性度 및 細胞毒性을 측정하였으며, 先天的 免疫反應에 미치는 영향을 알기 위하여 腹腔 大食細胞의 反應酸素 中間物質의 생성에 미치는 영향을 조사 하였던 바 有意한 결과를 얻었기에 이를 보고하고자 한다.

## II. 實驗 材料 및 方法

### 1. 實驗 材料

#### 1-1. 動物

생후 8-10週 사이의 BALB/C 생쥐와 C57BL/6생쥐(圓光大學校 韓醫科大學 實驗動物 飼育室)로 cage(18×20cm)당 6個體의 밀도를 유지하였으며, 2주일간 실온에서 물과 사료(제일사료주식회사)를 충분히 공급하고, 낮과 밤의 주기를 12시간씩 조절하면서 가능한 한 스트레스를 받지 않도록 사육한 다음 본 실험에 사용하였다.

## 1-2. 藥 材

본 실험에서 사용한 약제는 원광대학교 한의과대학 전주한방병원에서 구입한 후 본 초학교실의 검정을 거쳐 정선하여 사용하였다.

## 1-3. 抗原<sup>11-13)</sup>

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으로 부터 採血한 후 同量의 Alsever 씨액(pH 6.1)을 가하여 4℃에서 보관하면서 4주 이내에 사용하였으며 보관 중인 綿羊赤血球를 사용할 때는 사용직전에 멸균한 phosphate buffered saline(PBS) pH7.2로 2-3회 세척하여  $1 \times 10^8$  cell의 농도로 適定한 후 사용하였다.

## 2. 方法

### 2-1. 檢液의 調製

성인 분량 10g/60kg(1회)에 해당하는 薏苡仁 10g을 2000ml round flask에 넣고 증류수 620ml를 가하여 100℃로 4시간 동안 重湯하여 濾過布로 여과하였으며, 여과액을 1000rpm에서 20분간 원심분리하여 얻은 上清液을 다시 重湯하여 100ml(1x)씩으로 농축하여 檢液으로 사용하였다.

### 2-2. 檢液

#### 2-2-1. 生體內 實驗

각각의 檢液投與群에서는 검액을 생쥐 1마리당 EII1군은 검액을 희석하여(EII:DW=1:10), EII2군은 검액을 그대로(EII x1), EII3군은 검액을 농축하여(EII x10) 0.5ml씩 1日 1回씩 14日 동안 경구투여 하였으며, 對照群은 同量의 생리식염수(0.85% NaCl)를 동일 방법으로 투여하였다.

#### 2-2-2. 生體外 實驗

정상 마우스의 大食細胞를 분리한 후 1군은 검액(EIIx1)을, 2군은 검액(EII:DW=1:10)을, 3군은 검액(EII:DW=1:100)을 분리된 大食細胞에 처리한 후 6시간 培養하였다.

#### 2-2-3. 抗原<sup>11-13)</sup>

胸腺 存在性 抗原으로 사용한 綿羊赤血球(SRBC)는 全北大學校 獸醫科大學에서 사육하고 있는 綿羊의 頸靜脈으로 부터 채혈한 후 동량의 Alsever 씨액(pH 6.1)을 가하여 4℃에서 보관하면서 4주 이내에 사용하였으며 보관 중인 綿羊赤血球를 사용할 때는 사용 직전에 멸균한 PBS로 2-3회 세척하여  $1 \times 10^8$  cell의 농도로 適定한 후 사용하였다.

#### 2-2-4. 凝集素價 및 溶血素價 測定<sup>16-18)</sup>

약물 투여 14일째 모든 실험군의 생쥐에  $1 \times 10^8$  cell의 SRBC를 腹腔內로 주입하여 免疫하고, 免疫후 8일에 眼球後靜脈으로 부터 pasteur pipette을 이용하여 채혈한 다음 凝集素價 및 溶血素價를 측정하였다.

凝集素價의 측정은 실험군으로 부터 얻은 血清을 56℃에서 30분 동안 가열하여 補體作用을 제거한 후에 microtitration trays(Lymbro chemical co.)에 멸균한 PBS를 25 $\mu$ l씩

連續 稀釋한 후 여기에  $1 \times 10^8$  Cell의 SRBC를  $50 \mu\text{l}$ 씩 각각 分注시킨 후  $37^\circ\text{C}$ 에서 24시간 배양후 凝集이 발생한 最少 濃度의 값으로 결정하였다.

溶血素價의 측정은 실험군으로 부터 얻은 血清을  $56^\circ\text{C}$ 에서 30분 동안 가열하여 補體作用을 제거한 후에 microtitration trays에 5% rabbit complement(PBS 19:1 RC)를  $25 \mu\text{l}$ 씩 分注한 다음 여기에  $1 \times 10^8$  Cell의 SRBC를 각각 分注하여  $37^\circ\text{C}$ 에서 1시간동안 배양한 후 血清이 발생한 最小 濃度의 값으로 결정하였다.

### 2-2-5. Rosette 形成細胞 測定<sup>11-15)</sup>

rosette 形成細胞(rosette forming cell ; RFC)의 측정은 Bach 등의 방법에 따라서 측정하였다. 單核細胞 浮遊液은 실험군의 BALB/C 생쥐로 부터 腹腔을 절개하여 脾臟(2개체혼합)을 적출한 후 ficoll-paque을 이용하여 400g으로 원심분리시켜 얻었다. 이렇게 얻은 單核細胞混合 浮遊液을  $3 \times 10^7$ 개의 세포로 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 첨가한 후  $37^\circ\text{C}$ 에서 30분동안 배양하였다. 그 후 냉각된 15ml의 HBSS를 계속해서 주사기에 주입하여 통과시켰다. 이와 같이 준비된 淋巴球를  $1 \times 10^6$ 세포로 滴定한 후에  $1 \times 10^7$  SRBC를 혼합하여  $37^\circ\text{C}$ 에서 1시간 동안 배양하였다. rosette 형성세포의 측정은 상기와 같이 배양된 細胞浮遊液을  $4^\circ\text{C}$  暗冷狀態에서 12시간 이상 보관한 후 400x 현미경 시야에서 淋巴球 한 개당 3개 이상의 SRBC가 부착된 것을 檢鏡하여 결정하였다.

### 2-2-6. 同種抗原에 대한 免疫反應(allogenic immune response)의 測定<sup>19,20)</sup>

약물의 투여가 마우스의 同種抗原에 대한 면역반응에 미치는 영향을 알아보기 위하여 C57BL/6(allogenic)이나 BALB/C(syngenic) 생쥐의 脾臟細胞를 pH 7.2인 PBS에  $1 \times 10^7$  cells/50  $\mu\text{l}$ 로 適定한 다음 이를 14일간 약물을 투여한 마우스의 오른쪽 膝窩部位에 주사하였다. 주입 후 7일이 지난 다음 실험군 마우스의 膝窩 림프절을 제거하여 림프절의 무게를 측정하였다. 각 생쥐에 대한 同種抗原 면역반응의 정도는 刺戟 測定度(stimulation index)로 나타내었으며 다음 공식에 따랐다.

$$\text{stimulation index (S.I.)} = \frac{\text{lymph node weight (allogenic)}}{\text{lymph node weight (syngenic)}}$$

### 2-2-7. 細胞 毒性 測定<sup>30)</sup>

본 약물의 투여가 抗腫瘍 작용에 미치는 영향을 알아보기 위하여 癌細胞株인 K562 세포를 배양하여  $^3\text{H}$ -thymidine이 單位時間內에 세포내로 유입되는 정도를 측정하였다. 사람의 lymphoma cell인 K562 세포를 RPMI 1640/10% fetal bovine serum(FBS) 배양액에서 5%  $\text{CO}_2$ ,  $37^\circ\text{C}$  조건을 맞춰 키워 96well plate에 分注하고 여기에 定量의 EII를 첨가하여 24시간 배양한 후  $1 \mu\text{Ci}$   $^3\text{H}$ -thymidine을 넣고 4시간동안 배양하였다. 각 well로부터 세포를 모은 후 放射性 同位元素 測定器에 의하여 측정하였다. 세포의 增殖率은 CPM으로 나타내었다.

**2-2-8. 接觸性 過敏反應의 測定<sup>13,23-27)</sup>**

接觸性 過敏反應(contact hypersensitivity ; CH)의 유발을 위하여 2-4-dinitro-1-fluorobenzene (DNFB, sigma)을 抗原으로 사용하였다. acetone과 olive oil을 4:1의 비율(V/V)로 용해한 후 1.5% DNFB 용액 20 $\mu$ l을 약물 투여 8일된 실험군 생쥐의 腹部皮膚에 感作하고 감작 후 4일에 0.2% DNFB 용액 5 $\mu$ l을 耳輪內面에 각각 塗抹하여 惹起 措置하였다. 腫脹增加率은 Mitutoyo engineer's micrometer을 이용하여 惹起直前과 惹起後 24시간 뒤에 각각 측정하여 10<sup>-4</sup>inch로 나타냈으며, 억제(depression)의 백분율은 다음 공식에 의하여 계산하였다.

$$\text{depression (\%)} = \frac{\text{positive control} - \text{experimental control}}{\text{positive control} - \text{negative control}} \times 100$$

**2-2-9. 自然致死細胞(natural killer cell ; NK cell)의 活性度 測定<sup>42-42)</sup>**

1) 標的細胞 (target cell)

생쥐의 自然致死細胞에 感受성이 예민한 YAC-1세포를 NK cell활성도 측정에 사용하였다. YAC-1 세포는 연속 浮遊培養法으로 유지 하였으며, 培養液은 10% FBS과 penicillin(100 $\mu$ g/ml), streptomycin(100 $\mu$ g/ml) 및 gentamycin(100 $\mu$ g/ml)이 첨가된 RPMI 1640을 사용하였다.

2) 效果細胞 (effector cell)

약물이 투여된 실험군 생쥐로 부터 복부를 절개하여 spleen를 적출한 다음 3ml의 Hank's balanced salt solution(HBSS)가 들어 있는 petridish로 옮긴 후 slide glass로 으개어서 細胞浮遊液을 만들었다. 세포부유액을 mesh로 거른 다음 ficoll-paque를 사용하여 400g으로 원심분리시켜서 單核細胞層을 얻었다. 단핵세포는 HBSS로 3회 세척하여 hemocytometer를 사용하여 4x10<sup>6</sup>개의 세포로 滴定한 후 自然致死細胞 活性도 측정에 사용하였다.

3) 自然致死細胞 活性度 分析

carboxyl fluorescein dye acetate(C'FDA)의 working solution(150 $\mu$ g/ml)은 C'FDA stock solution (20 $\mu$  g/ml/acetone) 7.5 $\mu$ l를 1ml의 HBSS에 희석시켜서 15분이내에 실험에 사용하였다. 標的細胞의 라벨은 C'FDA의 working solution 1ml 에 2x10<sup>6</sup>개의 YAC-1 세포를 부유시켜서 30분간 배양시켰다. 배양 후 2ml의 HBSS로 3회 세척한 후 자연치사세포 活性도 측정에 사용하였다. C'FDA에 라벨된 YAC-1 세포는 200 RPMI 1640 medium이 들어 있는 5mm round-bottomed polystyrene tube에 效果細胞와 함께 배양하였고 효과세포와 표적세포의 비율은 20:1 로 하였으며, 融合을 향상시키기 위하여 200g로 약 30초간 원심분리시켜 5% CO<sub>2</sub> incubater에 37 $^{\circ}$ C에서 배양하였다. 배양은 3시간동안 수행하였으며, 流式細胞 分離 分析器(FCM)로 측정할 때까지 4 $^{\circ}$ C의 暗冷狀態에서 보관하였다. 또한 C'FDA에 라벨된 2x10<sup>4</sup>개의 YAC-1 세포만 200 RPMI 1640 medium에서 실험군과 동일한 시간으로 배양하였으며, 이것을 投與對照群으로 사용하

였다. YAC-1 세포의 生存率은 trypan blue(Flow Labs)exclusion方法과 流式細胞 分離 分析器로 측정하였으며 90%이상 이었다.

자연 치사세포에 의해 치사되는 표적세포의 측정은 488nm 세기로 發光된 argon-ion laser beam 200mW 출력에서 분석되었으며, 綠色螢光物質(fluorescein isothiocyanate)은 530nm의 band pass filter에서 선택적으로 透過感知되었다. 감지된 정보는 BDIS의 consort 30 program에 의하여 백분율로 계산되었다. 자연치사세포의 활성도는 다음 공식에 의해 계산되었다.

$$\text{NK cell activity (\%)} = \frac{\text{TE0} - \text{TE3}}{\text{TE0}} \times 100$$

TE0 : C'FDA로 label된 YAC-1 cell과 effector cell을 혼합하여 배양직전(0시간)의 C'FDA로 label된 YAC-1 cell의 수

TE3 : C'FDA로 label된 YAC-1 cell과 effector cell을 혼합하여 배양 3시간 후의 C'FDA로 label된 YAC-1 cell의 수

**2-2-10. 食食細胞의 反應酸素中間物質(reactive oxygen intermediates ; ROIs) 生成能의 測定<sup>43-45)</sup>**

1) 腹腔大食細胞의 誘導

① 生體內 實驗

약물이 투여된 마우스의 腹腔에 멸균된 PBS(pH7.2)로 腹腔을 세척하여 腹腔 大食細胞가 충분한 peritoneal exudate cell(PEC)을 얻었다. PEC는 차가운 PBS로 400g에서 10분간 원심분리하여 2회 세척한 후 veronal buffered saline (Ca<sup>2+</sup>,Mg<sup>2+</sup>,albumin,glucose 포함)에 5x10<sup>6</sup>cells/300μl가 되도록 適定한 후 chemiluminescence(CL)를 측정하였다.

② 生體外 實驗

정상 마우스의 腹腔에 멸균된 PBS(pH7.2)로 腹腔을 세척하여 腹腔 大食細胞가 충분한 PEC를 얻었다. EII를 각각의 농도로 첨가하여 6시간 배양 후에 세포를 harvest하여 차가운 PBS로 400g에서 10분간 원심분리하여 2회 세척한 후 veronal buffered saline (Ca<sup>2+</sup>,Mg<sup>2+</sup>,albumin,glucose 포함)에 5x10<sup>6</sup>cells/300μl가 되도록 적정한 후 CL를 측정하였다.

2) Lucigenin에 의해 誘導된 CL의 測定

Veronal buffered saline을 이용하여 5x10<sup>6</sup>cells/300μl로 적정된 PEC 單細胞 浮遊液을 Luminometer(LB 9509, Berthold)내에서 37°C로 15-30분 동안 preincubation시킨 후 O<sub>2</sub><sup>-</sup>를 측정할 수 있는 chemiluminogenic probe인 10mM의 Lucigenin 10μl를 주입하고 안정화 시킨 후 大食細胞를 자극시킬 수 있는 5.3μM phorbol myristate acetate(PMA)10μl를 주입하고 37°C조건에서 약 60분간 CL를 측정하였다.

3) Lunimol에 의해 誘導된 CL의 測定

Veronal buffered saline을 이용하여 5x10<sup>6</sup>cells/300ml로 적정된 PEC 單細胞 浮遊液

을 Luminometer(LB 9509, Berthold)내에서 37°C로 15-30분 동안 preincubation시킨 후 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 측정할 수 있는 chemiluminogenic probe인 10mM의 luminol 10μl를 주입하고 안정화 시킨 후 大食細胞를 자극시킬 수 있는 5.3μM PMA 10μl를 주입하고 37°C 조건에서 약 60분간 CL를 측정하였다.

### III. 實驗 成績

#### 1. 赤血球凝集素價 및 赤血球溶血素價에 미치는 影響

BALB/C 생쥐에 있어서 薏苡仁의 투여가 綿羊赤血球에 대한 抗體生成能에 미치는 영향을 알아보기 위하여 綿羊赤血球에 대한 凝集素價와 溶血素價를 측정하여 log<sub>2</sub>값으로 계산하였던 바 Fig.1 및 Fig.2과 같았다.

凝集素價는 對照群이 3.82±0.5인데 비하여 EII1은 6.54±0.4, EII2는 7.92±0.4, EII3은 8.15±0.7로써 모든 군에서 濃度 依存的으로 有意性있게 증가하였다(Fig. 1). 또한 溶血素價는 對照群이 2.54±1인데 이에 비하여 EII1은 4.95±0.5, EII2는 6.82±0.6, EII3은 7.54±0.6로 모두 농도 의존적으로 有意하게 증가하였다(Fig. 2).

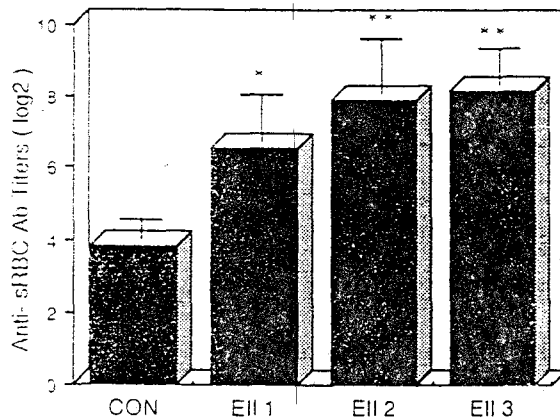


Fig. 1. Effects of EII administrations on the hemagglutinin titers. Mice were orally given EII for 14 days before sensitization. Mice were sensitized with SRBC on day 0, and hemagglutinin titers were measured on the day 8. Significant increment was shown in three mice groups(EII1, EII2, EII3). The above data shows mean ±S.E. P<0.05, P<0.005 compared with the control group. The components of administered drug are as follows : CON, Normal saline(0.5ml/day), EII1, EII : DW = 1 : 10, EII2, EII ×1(0.5ml/day), EII3, EII ×10(0.5ml/day)

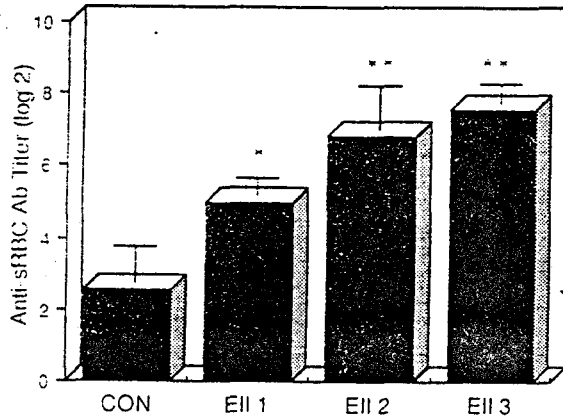


Fig. 2. Effects of EII administrations on the hemolysin titers against SRBC. Mice were orally given EII for 14 days before sensitization. Mice were sensitized with SRBC on day 0, and hemolysintiters are measured on the day 8. The components of administered drug are same as in Fig. 1. An increment was shown in three mice groups. The above data shows mean  $\pm$  S.E.  $P < 0.05$ ,  $P < 0.005$  compared with the control group.

## 2. Rosette 形成細胞에 미치는 影響

BALB/C 생쥐에 있어서 薏苡仁의 투여가 綿羊赤血球에 대한 免疫反應細胞數를 비교하기 위하여, 생쥐로부터 脾臟을 적출하여 rosette 形成細胞數를 측정하였던 바 대조군의  $10^6$  脾臟細胞當  $10^3$  RFC의 수는  $32.7 \pm 4$ 인데 비하여, EII1은  $75.4 \pm 45$ , EII2는  $132.5 \pm 4$ , EII3는  $100.7 \pm 3$ 로 대조군과 비교하였을 때 모두 크게 증가하는 경향을 보였으며 그 중 특히 EII2에서 가장 높은 증가를 보였음을 알 수 있었다(Fig. 3).

## 3. 同種抗原 免疫反應에 미치는 影響

BALB/C 생쥐에 있어서 薏苡仁의 투여가 同種抗原에 대한 면역반응에 미치는 영향을 알아보기 위하여 C57BL/6이나 BALB/C 생쥐의 脾臟에서 lymphocytes를 얻어내어 생쥐의 膝窩部位에 주사하여 Fig.4와 같은 결과를 얻었다.

대조군  $1.01 \pm 0.2$ (S.I.)인데 반하여 EII1은  $5.94 \pm 0.5$ , EII2는  $7.25 \pm 0.4$ , EII3은  $7.84 \pm 0.3$ 으로써 대조군에 비하여 모두 유의하게 증가하였다(Fig. 4).

## 4. 細胞 毒性에 미치는 影響

BALB/C 생쥐에 있어서 薏苡仁의 투여가 抗癌作用에 미치는 영향을 알아보



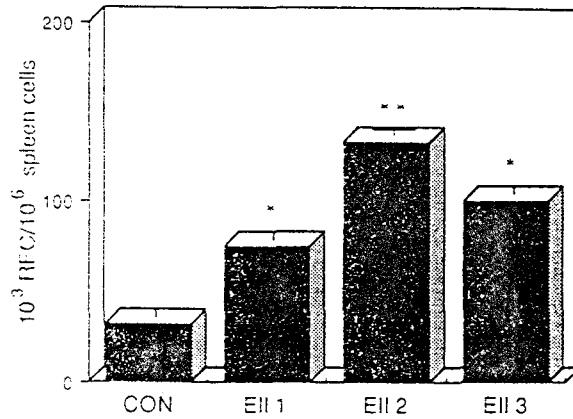


Fig. 3. Effects of EII administrations on the appearance of rosette forming cells(RFC) in mice. Mice were immunized with SRBC, and spleen cells were assayed for RFC at 8 days after immunization. Mice were orally given EII for 14 days before sensitization. The components of administered drug are the same as in Fig. 1. A significant increment was shown in three mice groups(EII1, EII2, EII3). The above data shows mean  $\pm$ S.E.  $P < 0.05$ ,  $P < 0.005$  compared with the control group.

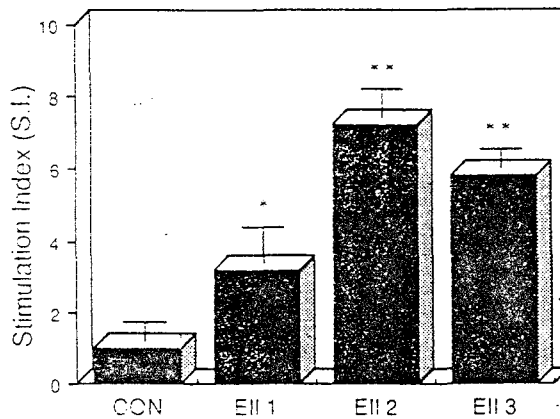


Fig. 4. *In vivo* effects of EII administrations on the allogenic immune response. Experimental mice were injected splenocytes prepared from allogenic(C57BL/6) donor in one foot pad and syngenic(Balb/C) donors in the contralateral foot pad. Seven days later, the popliteal nodes were removed and weighed. A stimulation index of each mouse was calculated as described in Materials and Methods. The above data shows mean  $\pm$ S.E.  $P < 0.05$ ,  $P < 0.005$  compared with the control group.

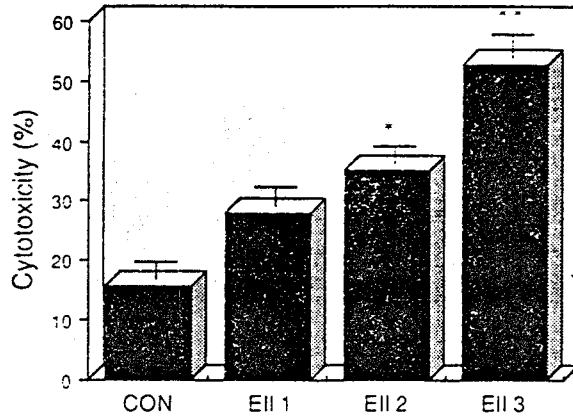


Fig. 5. Effects of EII administrations on the cytotoxicity in human lymphoma(k562). For the analysis of cytotoxicity, the cells were incubated RPMI1640/10% FBS and treated with various concentrations of EII. After 1 hr, the cells were labelled with 1  $\mu$ Ci [ $^3$ H]-Thymidine for 4 hr. A Significant increment was shown in two mice groups(EII2, EII3). The above data shows mean  $\pm$ S.E. P<0.05, P<0.005 compared with the control group. The components of administered drug are as follows : EII1, 1 $\times$  EII : DW = 1 : 100, EII2, 1 $\times$  EII  $\times$ 10, EII3, 1 $\times$  EII : DW=1.

기 위하여 癌細胞株인 K562를 사용하여 실험한 결과, 대조군은 15.8 $\pm$ 4%인데 비하여 EII1은 27.9 $\pm$ 3%, EII2는 35.2 $\pm$ 4%, EII3는 52.9 $\pm$ 3%로 薏苡仁을 생쥐에 투여할 경우 抗癌 효과가 전반적으로 증가함을 알 수 있으며 특히 EII2와 EII3에서 유의성을 나타냄을 알 수 있었다(Fig. 5).

### 5. 接觸性 過敏反應에 미치는 影響

BALB/C 생쥐에 있어서 薏苡仁의 투여가 DNFB 減作에 의한 接觸性過敏反應에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 검액을 생쥐 한마리당 0.5ml씩 14일간 경구 투여한 결과, DNFB감작에 의한 接觸性 過敏反應의 抑制率은 Fig.6 과 같았다. 대조군이 35.4 $\pm$ 3%인데 비해 EII1은 11.2 $\pm$ 2%, EII2는 10.0 $\pm$ 4%, EII3는 9.8 $\pm$ 2%로써 모두 유의하게 감소하였다(Fig. 6).

### 6. NK 細胞의 活性度에 미치는 影響

BALB/C 생쥐에 있어서 薏苡仁의 투여가 NK cell의 活性度에 미치는 영향을 알아보기 위하여 YAC-1 target cell을 대상으로 실험한 결과 대조군은 72.3 $\pm$ 5%인데 비하여

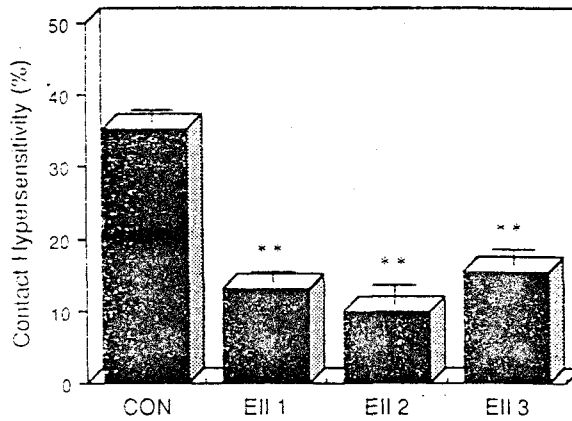


Fig. 6. Effects of EII administrations on contact hypersensitivity response in mice. Mice were contactsensitized with 20  $\mu$ l of 1.5% DNFB on the day 0. Mice were challenged on the day 5 after sensitization on ear, and ear swellings were measured 24 hrs late. Significant inhibitions were shown in three mice groups(EII1, EII2, EII3). The components of administered drug are the same as in Fig. 1. The above data shows mean  $\pm$ S.E.  $P < 0.05$ ,  $P < 0.005$  compared with the control group.

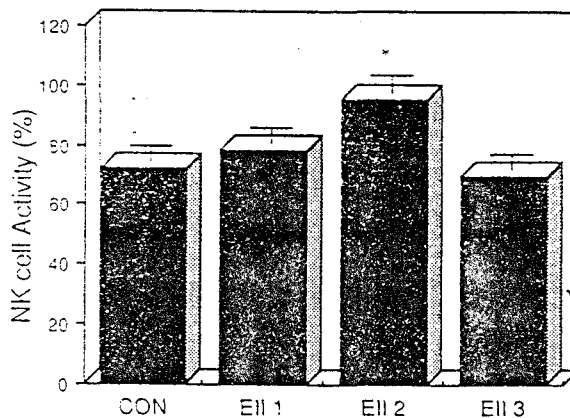


Fig. 7. Effects of EII administrations on NK cell activity. Effector cells are incubated with C'FDA labelled YAC-1 target cells at the ratio of 20 : 1 for 3 hrs. The activity of NK cells was calculated according to the Materials and Methods. The components of administered drug are the same as in Fig. 5.

EII1은 78.4±5%, EII2는 95.2±7%, EII3는 69.5±6%로 EII1과 EII2에서 증가하였으며 EII3에서는 대조군에 비하여 오히려 약간 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 7).

## 7. 貪食細胞의 反應酸素中間物質 生成能에 미치는 影響

### 7-1. 生體內 實驗

薏苡仁의 투여가 BALB/C 생쥐의 大食細胞의 ROI 생성에 미치는 영향을 살펴보기 위하여, 薏苡仁을 14일간 투여한 생쥐의 腹腔 大食細胞를 분리한 다음 세포  $1 \times 10^6$  cell/300 $\mu$ l에 lucigenin과 luminol을 각각 첨가하여 CL로 그 활성도를 측정하였다. lucigenin에 의해 유도된 大食細胞의 활성도를 CPM $\times 10^6$ 값으로 계산한 결과, 대조군은  $10.5 \pm 0.5 \times 10^6$  CPM 인데 비하여 EII1은  $13.3 \pm 0.6 \times 10^6$  CPM, EII2는  $12.1 \pm 0.6 \times 10^6$  CPM으로 증가하는 경향을 보였으며 EII3는  $14.3 \pm 0.5 \times 10^6$  CPM으로 유의성있게 증가하는 경향을 보였다(Fig. 8).

luminol에 의하여 유도된 大食細胞의 활성도를 CPM $\times 10^6$ 값으로 계산한 결과, 대조군은  $9.54 \pm 0.5 \times 10^6$  CPM이며 EII1, 2, 3은 각각  $11.5 \pm 0.4 \times 10^6$  CPM,  $14.2 \pm 0.7 \times 10^6$  CPM,  $8.7 \pm 0.2 \times 10^6$  CPM으로 대체적으로 증가하는 경향을 보였으며 EII2에서는 유의성을 나타내었다(Fig. 10).

### 7-2. 生體外 實驗

生體外에서 薏苡仁의 영향을 알아보기 위하여 정상 생쥐로부터 腹腔 大食細胞를 분

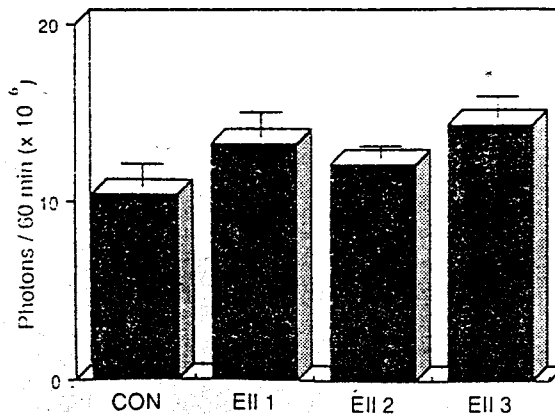


Fig. 8. *In vivo* effects of EII administrations on the superoxide radical formation. Mice were given the drug orally for 14 days. Chemiluminogenic probe was done with 10 mM of lucigenin(10, 10' dimethyl-9, 9-biacridinium : DBN2+), which is amplifying superoxide radicals. Murine peritoneal macrophage( $1.0 \times 10^6$  cells/300 $\mu$ l) were stimulated by 5.3 $\mu$ M phorbol myristate acetate (PMA), and the measurement of superoxide radicals was carried out in the chemiluminometer for 60 minute at 30 $^{\circ}$ C. A Significant inhibition was shown in one mouse group(EII3). The components of administered drug are the same as in Fig. 1. The above data shows mean  $\pm$ S.E.  $P < 0.05$ ,  $P < 0.005$  compared with the control group.

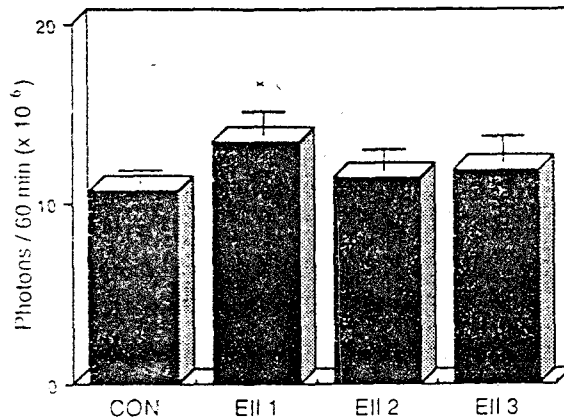


Fig 9. *In vitro* effects EII administrations on the superoxide radical formation. TG-elicited macrophages were incubated with EII for 6 hour. The cells were harvested, centrifuged and measured for superoxide formation. Chemiluminogenic probe was done with 10mM of lucigenine(10, 10' dimethyl-9, 0-biacridinium:DBN2<sup>+</sup>), which is amplifying superoxide radicals. The cells were stimulated by 5.3mM phorbol myristate acetate(PMA), and the measurement of superoxide radicals was carried out in the chemiluminometer for 60 min at 37°C. The components of administered drug are the same as in Fig. 5. Significant increment was shown in one mouse groups(EII1). The above data shows mean  $\pm$ S.E.  $P < 0.05$  compared with the control group.

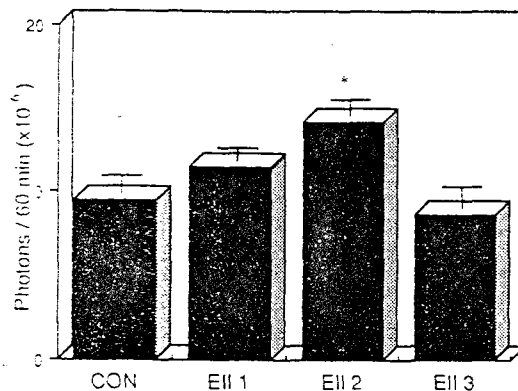


Fig 10. *In vitro* effects EII administrations on the hydrogen peroxide radical formation. Mice were given the drug orally for 14 days. Chemiluminogenic probe was done with luminol(5-amino-2, 3-dyhydro 1, 4-phthalazinedione), which is amplifying hydrogen peroxide radicals. Murine peritoneal macrophages( $1.0 \times 10^6$  cells/ $300 \mu\ell$ ) were stimulated by 5.3 $\mu$ M phorbol myristate acetate(PMA), and the measurement of hydrogen peroxide radicals was carried out in the chemiluminometer for 60 minute at 30°C. A significant increment was shown in one mouse groups(EII 2). The components of administered drug are the same as in Fig. 1. The above data shows means  $\pm$ S.E.  $P < 0.05$  compared with the control group.

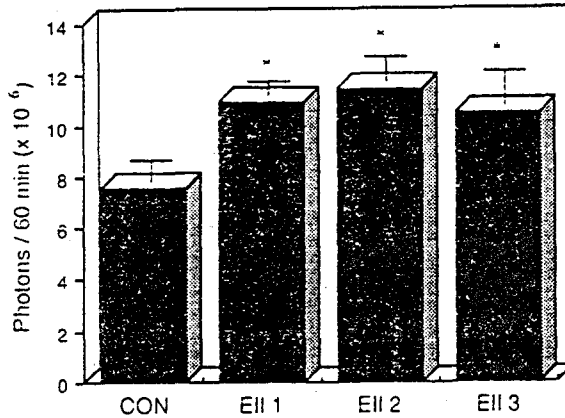


Fig. 11. *In vivo* effects of EII administrations on the hydrogen radical formation. TG-elicited macrophages were incubated with EII for 6 hr. The cells were harvested, centrifuged and measured for hydrogen peroxide radical formation. Chemiluminogenic probe was done with 10 mM of luminol(5-amino-2, 3-dyhydro 1, 4-phthalazinedione), which is amplifying superoxide radicals. The cells were stimulated by 5.3mM phorbol myristate acetate(PMA), and the measurement of hydrogen peroxide radicals was carried out in the chemiluminometer for 60 minute at 37°C. The components of administered drug are the same as in Fig. 5. Significant increment was shown in three mice groups(EII1, EII2, EII3). The above data shows mean  $\pm$ S.E.  $P < 0.05$ ,  $P < 0.005$  compared with the control group.

리한 후 x1의 薏苡仁을 1x, 1:10, 1:100으로 희석하여 세포에 직접 처리하여 6시간 배양한 후 세포를 收穫하여 상기와 같은 방법으로 측정하였다.

lucigenin에 의하여 유도된 大食細胞의 활성도를 CPM $\times 10^6$ 값으로 계산한 결과, 대조군은  $10.7 \pm 0.5 \times 10^6$  CPM인데 비하여 EII1은  $13.5 \pm 0.5 \times 10^6$  CPM, EII2는  $11.5 \pm 0.6 \times 10^6$  CPM, EII3은  $11.9 \pm 0.3 \times 10^6$  CPM으로 EII1에서 유의성있게 증가하는 경향을 보였다(Fig. 9). Luminol에 의해 유도된 大食細胞의 활성도를 CPM값으로 계산한 결과 대조군은  $7.53 \pm 0.5 \times 10^6$  CPM인데 비하여 EII1, 2, 3은 각각  $10.9 \pm 0.3 \times 10^6$  CPM,  $11.4 \pm 0.4 \times 10^6$  CPM,  $10.5 \pm 0.3 \times 10^6$  CPM으로 모두 유의하게 증가하였다(Fig. 11).

#### IV. 考 察

薏苡仁(*Coicis Semen*)은 禾本科(벼과 ; Gramineae)에 속한 薏苡 및 薏苡의 성숙한 種仁을 건조한 것으로<sup>1,2)</sup> 藥玉米, 水玉米, 溝子米, 苡仁, 天谷, 苡米, 薏黍, 玉珠, 回回米, 解蠶, 芑實, 米仁 薏珠子, 草珠兒, 必提珠, 起實, 薏米, 六穀子 등의 異名으로 불리운다.<sup>1)</sup>

神農本草經<sup>31)</sup> 上品에 “味甘微寒無毒 主筋急拘攣 不可屈伸 風濕痺 下氣”라고 최초로 기록된 이래 本草綱目<sup>32)</sup>, 經史證類大觀本草<sup>33)</sup>를 비롯한 여러 文獻에 인용되었는데 利水 滲濕, 除濕痺, 清肺排膿, 健脾止瀉 등의 효능이 있어 임상에서는 小便短赤, 沙石熱淋, 水

腫脚氣, 風濕痺痛, 筋脈拘攣, 肺癰, 肺痿, 腸癰, 脾虛泄瀉, 消渴 等に 응용되고 있다<sup>34)</sup>.

薏苡仁의 밝혀진 성분으로는 leucine, lysine, arginine, tyrosine 등의 아미노산과 coixol, coixenolide, phytin, triterpenoid, vitamin B<sub>1</sub>,  $\beta$ -sitosterol 등이 있다<sup>3,5-7)</sup>.

薏苡仁의 免疫과 관련된 작용에 대해서는 胸腺을 萎縮시키고 副腎皮質機能을 促進시킨다 하였으며<sup>34)</sup>, 免疫反應 初期段階의 脾臟에 있어 抗原陽性 細胞를 增殖시킨다 했고<sup>35)</sup>, SRBC에 대한 溶血素價 및 rosette 形成率을 增加시킨다고 밝혔다<sup>36)</sup>. 또 에를리히 腹水癌, Sarcoma 180, 요시다육종, HeLa세포 등에 대해서 일정한 抑制作用을 가지며 腫瘍細胞質을 變性시켜 核分裂을 中期에 停止시키는 성분도 포함되어 있는데, coixenolide가 유효성분 중의 하나라 하였고<sup>37,38)</sup>, 扁平疣에 관해 치료 효과가 있다는 임상적 보고가 있다.<sup>39,40)</sup> 그 외 絨毛膜上皮癌, 胃癌, 咽喉癌, 子宮筋腫, 乳線癌 등에도 치료 효과가 있다고 하였다.<sup>41)</sup>

薏苡仁의 약리학적 연구를 살펴보면 寺坂<sup>42)</sup>은 薏苡仁의 에테르 추출물은 개구리의 心筋, 骨格筋, 末梢運動神經, 家兔의 腸管에 대하여 低濃度時 興奮作用, 高濃度일 때 麻痺作用이 있고, 家兔에 靜脈注射 후 血壓下降, 呼吸頻數, 肺血循環으로 障礙를 일으키며 家兔의 子宮 緊張度 및 振幅을 增大시켰다고 하였다. 大津<sup>43)</sup>은 薏苡仁의 에테르 抽出物이 개구리 骨格筋의 攣縮을 減少시킨다고 했으며, 中山<sup>44)</sup>은 薏苡仁이 癌細胞에 대한 抑制作用이 있음을 組織學的으로 밝혔다. 羽野<sup>45)</sup>는 薏苡仁의 에탄올 抽出物은 두꺼비의 心臟 및 家兔의 腸管의 運動을 抑制시키고, 家兔에 靜脈注射時 血壓降下作用이 있으며 大量의 腹腔注射時 血糖을 조금 下降시키고, actomyosin-ATP 系統의 活動을 防碍하여 橫膈膜의 酸素 消耗量 및 糖分解를 抑制하며 電氣刺戟으로 인하여 일어나는 收縮反應도 抑制시켰고, multisynaptic reflex에 대한 一時的 抑制作用이 있으며, 鎮痛·鎮靜作用, 解熱作用이 있다고 보고하였다.

個體의 免疫系는 微生物과 같이 외부에서 個體 내부로 침입하든지 變異細胞와 같이 개체 내에서 발생한 이물질을 非自我로 인식하여 이에 대하여 防禦, 監視, 抵抗, 除去함으로써 개체 내부의 恒常性을 유지시키는 기능을 가지고 있다.<sup>46-49)</sup>

免疫系의 세포로는 표면에 受容體를 가지고 있어 이물질을 특이하게 인식하여 食食細胞로 하여금 탐식하게 免疫反應을 지휘하는 림프구가 있는데, 이는 면역반응을 조절하고 細胞媒介免疫反應을 담당하는 T 세포와 항체를 생성하여 이물질을 공격하는 體液性免疫反應을 담당하는 B 세포로 이루어져 있으며, 또 부착하는 이물질을 비특이적으로 탐식분해하는 食食細胞들이 있는데, 혈액에 존재하는 好中球나 好酸球 외에 혈액 및 모든 조직에 산재하는 單核食食細胞系(mononuclear phagocytic system ; MPS)에 속하는 單球 및 大食細胞 등이다<sup>10,55)</sup>. 이들은 상호 협동작용으로 개체에 발생한 내부환경의 항상성을 유지하고 항상성의 파괴를 원상으로 회복시키려 한다<sup>51)</sup>.

免疫過程中에 免疫系가 微生物이나 腫瘍細胞 등의 이물질을 공격하면 개체에 이로운 면역성을 부여하지만 자신의 조직이나 세포에 대한 면역반응을 야기하면 自家免疫性疾患에 罹患되고 외부에서 유래한 물질이라도 꽃가루나 동물의 털등과 같이 변식능력이

있는 물질에 면역반응이 야기되면 allergy 등의過敏性疾患을 초래하게 된다<sup>46,47,50</sup>.

또 비록 외부에서 침입한 미생물에 의한 면역반응이라도 반응기간이 너무 오래 지속되거나 갑작스럽게 큰 반응이 초래되면 조직손상이 너무 커서 피해를 입게 된다<sup>52</sup>.

韓醫學에서 볼 때 西洋醫學의 免疫의 概念인 “自己”와 “非自己”를 “正氣”와 “邪氣”로 비교할 수 있으며, 질병의 발생과 發病過程 및 轉歸를 正邪抗爭으로 파악할 수 있는데 正氣는 인체가 邪氣의 侵犯에 저항하고 생활환경에 적응하여 정상적인 생명활동을 유지하는 능력의 총칭이며, 邪氣는 六淫外에 七情, 飲食, 勞倦, 瘀血, 痰飲 등의 인체내외의 발병요인을 포괄하여 지칭하는 것으로 邪氣와 正氣의 相對的 強弱 및 進退狀況이 곧 邪氣消長의 과정으로 파악되는 것이다<sup>53</sup>.

이러한 과정에 대하여 《素問·評熱病論》<sup>54</sup>에서는 “邪氣所湊 其氣必虛”라 하였고, 《素問·刺法論》<sup>54</sup>에서는 “正氣存內 邪不可干”이라 했으며, 《靈樞·百病始生論》<sup>54</sup>에 “風雨寒濕不得虛 邪不能獨傷人”이라 하여 正氣의 강약이 질병발생에 결정적인 역할을 한다고 하였고, 《素問·通評虛實論》<sup>54</sup>에서는 “邪氣盛則實 精氣奪則虛”라 하여 正邪抗爭의 過程中에서 相對的인 消長에 따라 虛實도 相互轉化한다 하였으며, 《醫宗金鑑·太陽上篇》<sup>55</sup>에 “凡外因百病之襲人 必先于表 表氣壯則衛固營守 邪由何入”이라 하여 外表에 침입한 邪氣에 대하여 인체를 방어하는 면역기능이 있다는 것을 말하였다.

黃<sup>10</sup>과 蔡<sup>56</sup>는 正氣虛弱을 疾病發生의 主因으로 인식하고 扶正祛邪法을 응용하여 免疫機能低下時는 “扶正法”을 주로 하고, 免疫過敏疾患은 “祛邪法”을 주로 하되 韓方의 辨證求因法에 의해 扶正과 祛邪의 비율을 결정해야 한다고 하였는데, 扶正은 益衛氣, 補元氣, 養血氣, 益肺, 健脾, 補腎을 포괄하면서 인체의 면역을 촉진시키고, 祛邪는 祛散風邪, 清熱解毒, 活血化瘀, 滌痰化濁 등을 포괄하여 면역반응을 억제한다고 하였다.

이런 점에서 볼 때 薏苡仁은 利水滲濕, 清熱排膿, 祛風勝濕하는 效能을 지니므로 祛邪하는 작용이 있고, 健脾益胃, 補肺하는 효능을 가지므로 扶正의 작용도 있다 하겠다.

본 실험에서 저자는 薏苡仁의 투여가 개체의 면역반응에 미치는 영향을 조사하기 위하여 마우스의 體液性 및 細胞性 免疫反應, 抗癌作用, 先天的 免疫反應에 미치는 영향을 관찰하였다.

綿羊赤血球에 대한 凝集素價 및 溶血素價는 容易하게 抗體의 力價를 측정하는 방법으로 면역시킨 抗原과의 반응에 의하여 抗原 特異的 抗體 生産量을 측정하게 하므로 자극시킨 抗原에 對應할 수 있는 면역기능을 측정하는 데는 단순히 면역 globulin 함량 측정보다 더 적절한 방법이라 할 수 있다<sup>57</sup>. 薏苡仁을 mouse에 투여한 결과 凝集素價와 溶血素價 모두 유의성있게 증가하였다(Fig. 1, 2).

rosette 形成細胞는 綿羊赤血球에 대한 抗體形成細胞로, 이 세포의 수를 측정하여 면역반응을 간접적으로 평가할 수 있는데, 본 실험에서는 모두 증가하였다(Fig. 3).

薏苡仁의 투여가 同種抗原에 대한 면역반응에 미치는 영향을 관찰한 결과 모두 증가하는 양상을 보였으며(Fig. 4), T세포에 의한 免疫媒介疾患이라고 여겨지는 接觸性 過敏反應은 모두 억제하였다(Fig. 6).



개체의 統合的 조절을 받지 않고 급속히 성장하는 腫瘍細胞를 사멸시키는 自然致死細胞는 세포성 면역반응 중 抗癌免疫反應에 중요한 역할을 담당한다<sup>58,59</sup>. 薏苡仁이 자연치사세포의 활성화도에 미치는 효과를 관찰한 결과 대체로 증가하는 경향을 보였으며 (Fig. 7), 또 薏苡仁이 抗癌作用에 미치는 영향을 평가하기 위하여 細胞毒性反應을 조사한 바 전반적으로 증가함을 알 수 있었다(Fig. 5).

본 실험에서 先天的 免疫反應의 구성 요소인 마우스의 腹腔 大食細胞를 細胞刺戟劑인 PMA로 자극시켜 生體內·外에서 反應酸素中間物質 形成反應을 측정할 때 유의성 있게 증가하는 경향을 보였는데(Fig. 8, 9, 10, 11), 이는 탐식된 세포내 미생물을 사멸하는 숙주의 방어기능을 항진시킴<sup>58,60-62</sup>을 반영하는 결과였다.

이상의 실험결과에 의하면 薏苡仁의 투여로 綿羊 赤血球에 의한 凝集所價 및 溶血素價가 증가되고, 脾臟細胞가 綿羊赤血球와 이루는 rosette 形成細胞가 증가를 보여 體液性 免疫機能을 증강시키고, 同種抗原反應을 항진시키고 DNFB에 의한 接觸性 過敏反應은 억제하여 細胞性 免疫機能도 증강시킴을 알 수 있었다. 또한 NK 세포의 활성화도 및 細胞毒性에 대하여 관찰한 바 抗癌效果도 인정되었으며 腹腔 大食細胞의 反應酸素中間物質의 생성능을 관찰하였던 바 貪食細胞의 殺害機能을 항진시켜 先天的 免疫機能에 대한 증강 효과도 있는 것으로 나타나 感染性 疾患이나 腫瘍 및 여러가지 免疫機能의 異常으로 인한 질환에 유효하게 사용될 수 있을 것이라 사료된다.

## V. 結 論

薏苡仁의 투여가 세포독성과 면역반응에 미치는 영향을 조사하기 위하여 綿羊赤血球에 의한 凝集所價 및 溶血素價와 脾臟細胞가 綿羊赤血球와 이루는 rosette 形成能, 同種抗原反應, DNFB에 의한 接觸性 過敏反應, NK 細胞의 活性度, 細胞毒性 및 腹腔 大食細胞의 反應酸素中間物質의 生成能에 미치는 영향을 관찰하였던 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 薏苡仁 물 추출액은 SRBC에 대한 溶血反應과 凝集反應에서 抗體生成을 增加시켰다.
2. 薏苡仁물 추출액은 藥物의 濃度에 依存的으로 SRBC와 이루는 rosette 形成能을 有意性있게 增加 시켰다.
3. 薏苡仁 물 추출액은 同種抗原反應에 대하여 有意성이 認定되었다.
4. 薏苡仁 물 추출액은 細胞毒性에 대한 作用을 有意性있게 增加시켰다.
5. 薏苡仁 물 추출액은 藥物의 濃度에 依存的으로 DNFB에 의한 接觸性 過敏反應을 有意性있게 抑制시켰다.
6. 薏苡仁 물 추출액은 NK 細胞의 活性度を 增加시켰다.
7. 薏苡仁 물 추출액은 PMA에 의해 刺戟된 마우스 大食細胞의 ROI 生成能을 增加시켰다.

이상의 결과로 보아 薏苡仁은 細胞性 및 體液性 免疫을 增強시키는 역할을 하는 바

感染性 疾患이나 腫瘍 및 기타 免疫機能의 異常으로 인한 질환의 치료에 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

## 參考文獻

1. 辛民敎 : 臨床本草學, 南山堂, 서울, 1986, pp.578~579
2. 申佶求 : 申氏本草學(各論), 壽文社, 서울, 1988, pp.352~355
3. 江蘇新醫學院編 : 中藥大辭典, 上海科學技術出版社, 上海, 1977, pp.2645~ 2647
4. 李時珍 : 本草綱目, 人民衛生出版社, 北京, 1982, pp.1489~1492
5. 中等衛生學校試用教材《中草藥學》編寫組 : 中草藥學, 廣東人民出版社, 廣東, 1980, pp.350~351
6. 戴新民 : 中醫免疫學, 啓業書局, 台北, 1985, pp. 37~38
7. 山東中醫學院編 : 中藥學, 一中社, 서울, 1990, pp.148~149
8. 駱和生 : 免疫と漢方, 谷口書店, 東京, 1988, pp.62~65
9. 具本泓 : 免疫과 알레르기, 大韓韓醫學會誌, 1990, 11(2):9-10
10. 黃義玉, 吳泰煥, 權顯, 吉村永星 外 : 免疫學에 관한 文獻의 考察, 大韓韓醫學會誌, 1989, 10(1):193-226
11. Claman HN, Chaperon EA and Triplrtt RF : Thymusmarrow cell combination s ynergism in antibody production, Soc. Exp. Biol. Med. Proc. 1966, 59:83-87
12. Nowothy A : Antigen-antibody interactions in basic excercises in immunochemist ry, Springer, Verlag Bertin Heidelberg, N.Y., 1979, pp.217- 271, 285 -287
13. Zaalberg OB : A simple method of detection single antibody forming cells, Natu re, 1964, 202:1231
14. Biozzi G, Stiffel C, Mounon D, Bouthiller Y and Decrusefound C : A kinetic st udy of antibody producing cells in the spleen of mice immunized intravenously with sheep erythrocytes, Immunology, 1968, 14:7
15. Miller TE, et al : Immunopotential with BCGII, modulaton of the response to sheep red blood cells, J. Nat. Cancer Inst., 1973, 51:16669
16. Mitsuoka A, et al : Delayed hypersensitivity in mice induced by intravenous sensitization with sheep erythrocytes : evidence for tuberculin type delayed hypersensitivity of the reaction, Immunology, 1987, 34:363
17. Avrames L, Bach JF and Preud homme JL : Antibody formation at the cellur level in immunology, John wiley & Sons Inc, New York, 1982, pp.508-513
18. Bach JF, Dardenne M : Antigen recognition by T lymphocytes, Cellular Immunology, 1972, 3:1-10
19. Umezawa H, M Ishizuka T, Takeuchi F, Abe K, Nemoto K : Suppression of tissue graft rejection by spergualin. J. Antibiot. 1985, 38:283-284

20. Suzuki S, M Kanashiro and H Amemiya. : Effect of a new immunosuppressant, 15-deoxyspergualin, on heterotopic rat heart transplantation, in comparison with cyclosporine. *Transplantation*, 1987, 44:483-487
21. Hibbs JB Jr, LH Lambert Jr, and JS Remington. : Possible role of macrophage-mediated nonspecific cytotoxicity in tumor resistance. *Nature; New Biol.*, 1972, 235:48
22. Hibbs JB Jr, RR Taintor, HA Chapman Jr, and JB Weinberg : Macrophage tumor killing : influence of the local environment. *Science*, 1977, 197
23. Drapier JC, and Hibbs JB Jr. : Differentiation of murine macrophages to express nonspecific cytotoxicity for tumor cells results in L-arginine-dependent inhibition of mitochondrial iron-sulfur enzymes in the macrophage effector cells. *J. Immunol.*, 1988, 140:2689-2838
24. Stewart CC and Lin H : Macrophage growth factor and its relationship to colony stimulation factor, *Reticuloendothel. Soc.* 1978, 23:269
25. Kubo M and Archi S : G. L. antihypertensive component. *Jpn, Kokai Tokkyo Koho*, 1981, 81: 57801
26. McGrinnes KM, Chopman G, Marks R and Penny R. : A fluorescence NK assay using flow cytometry. *J. Immunol. Meth.* 1986, 86:7-15
27. Mufti SI, Prahala R, Moriguchi, Sipes IG and Watson RR.: Functional and numerical alterations induced by ethanol in the cellular immune system. *Immunopharmacol*, 1988, 15:85-94
28. Walker WS, Hester RB and Beelen RHJ: Persistent expression of IgA-antigen on a subpopulation of murine resident peritoneal macrophages. *Cell. Immunol.*, 1983, 79:125
29. Winter M and Buschmann HG.: Measuring phagocytic capacity in polymorphonuclear cell of the pig a comparison between different assay, *J. Vet. Med.*, 1987, 834:504
30. Winy EJ, Gardner ID, Ryminy FW and Remington JS : Dissociation of effector functions in populations of activated macrophages, *Nature*, 1977, 268:642
31. 徐大椿 : 神農本草經百種錄(欽定四庫全書 53), 大星文化社, 서울, 1995, p.565
32. 李時珍 : 本草綱目, 人民衛生出版社, 北京, 1982, pp.1489~1492
33. 唐慎微 : 經史證類大觀本草, 崇文社, 서울, 1976, p.160
34. 河南醫學院肝炎研究組 : 河南衛生, 1974, 4:19
35. 北京醫學院 微生物組 : 北京醫學院學報, 1978, 3:156
36. 解放軍白求恩國際和平醫院科研室 醫學資料匯編(北京軍區醫校), 1978, 1: 62
37. 章榮烈 : 中醫藥研究參考, 1974, 4: 3
38. 天津市藥檢所腫瘤藥理組 : 腫瘤方治研究資料選編, 1977, p.59

39. 李崇言：中藥薏苡仁治療扁平疣的初步報告，中華皮膚科雜誌，1958，6:492
40. 曹鐘書 外：薏苡仁治療扁平疣的初步報告，中華皮膚科雜誌，1959，1:34
41. 常敏毅：抗癌本草，湖南科學技術出版社，湖南，1987，pp. 328~330
42. 寺坂源雄：薏苡仁有效成分的研究(關於薏苡仁油的藥理作用)，日本藥學雜誌，1927，5(12):23-24
43. 大津喜一：薏苡仁的藥理學研究(關於對骨骼肌肉的作用)，藥學研究，1954，26(11):755-756
44. 中山恒明：抗癌民間藥的研究，日本醫師會雜誌，1959，41(12):945-950
45. 羽野壽：薏苡中各種成分的藥理學的研究(關於薏苡醇的研究)，藥學雜誌，1960，80(8):1118
46. 鄭憲鐸 外：免疫學入門，高文社，서울，1988，pp.9~11, p.61, 443, 519
47. 李淵臺：最新免疫學，集文堂，서울，1985，p.33, pp.162~163
48. 閔昌泓 外：最新微生物學，高文社，서울，1981，pp.79~80
49. 康秉秀：漢方臨床알레르기，成輔社，서울，1988，pp.49~52
50. 鄭憲鐸：알기 쉬운 면역생물학，행암사，1991，서울，pp.1~30
51. 金周德 外：로이트 必須免疫學，서울，高文社，1991，pp.7~8, 28~33, p.61
52. Harald HH, W Schmidt, et al. : Insulin secretion from pancreatic B cells caused by l-arginine-derived nitrogen oxides, Science, 1992, 255:721-723
53. 鄭遇悅：韓方病理學，三進社，全州，1988，總論 pp.15~17, 94~95, 各論 pp.5~7, 169~172
54. 楊維傑編：黃帝內經素問靈樞譯解，成輔社，서울，1980，(素問) p.235, 263, 266, (靈樞) p.469
55. 吳謙：醫宗金鑑(上)，大星文化社，서울，1983，p.33
56. 蔡禹錫：免疫疾患의 韓方概念과 治療에 관한 文獻的 考察，大韓韓醫學會誌，1991，11(2):54-91
57. Zaalberg OB : A simple method fo detection single antibody forming cells, Nature, 1964, 202:1231
58. 서울대학교 의과대학 : 면역학，서울대학교출판부，서울，1989，pp27-42,271,286
59. Kiessling R : Natural killer cells in the mouse, J. Immunol., 1975, 127:112
60. Valker PVD, Herman CJ : Leukocyte function, Lab Investigation, 1987, 57:127-129
61. Shepherd VL, Comphell EJ, Sienior RM, Stahl PD : Characterization of the mannose/ fucose receptor on human mononuclear phagocytes, I. Res.1982, 32:423-432
62. Babior BM, Kipnes RS, Cumutte JT : Biological defence mechanism; The production by leukocyte of superoxide, a potential bactericidal agent, Clin. Invest. 1983, 52:741