

# 竹瀝이 T-lymphocytes 및 腹腔 Macrophage에 미치는 影響

<sup>1</sup>동신대학교 한의과대학 · <sup>2</sup>원광대학교 한의과대학 · <sup>3</sup>부산대학교 의과대학 ·  
<sup>4</sup>우석대학교 자연과학대학 · <sup>5</sup>우석대학교 약학대학  
정현우<sup>1</sup> · 강성용<sup>1</sup> · 한종현<sup>2</sup> · 이원석<sup>3</sup> · 오찬호<sup>4</sup> · 은재순<sup>5</sup>

## I. 緒論

中風이라 함은 갑자기 口眼喎斜 · 言語不利 · 半身不遂가 나타나고, 심지어는 昏倒되어 人事不省까지 출현하는 질환이다<sup>12)</sup>. 中風の 病因에 대한 認識에 있어서 唐 · 宋以前에는 內虛邪中의 이론이 지배적이었는데, 漢의 張仲景과 隋의 巢元方, 그리고 宋의 嚴用和등은 외부의 風邪가 인체를 침범하여 일어난다고 하였으나, 金 · 元 시대에 이르러서는 朱丹溪, 劉河間, 王復등이 그 病因에 대하여 이전에 說明한 것과는 달리 외부에 의한 것이 아니라 내부요인에 의한 것이라라고 주장하였다. 또한 明代의 張景岳은 內傷을, 清代의 葉天士는 氣血衰退 · 肝陽偏亢 · 內風旋動을, 王清任은 氣虛血於를, 近代의 張山雷는 美食過食의 과영양으로 인한 釀痰蘊濕, 積熱生風을 中風の 要因<sup>1)</sup>이라하여 中風이 外風에 의한 것보다는 虛 · 火 · 痰 · 氣<sup>13)</sup>등 內風에 의한 疾患으로 認識되어왔다.

이러한 中風の 病因에 근거한 치료법들이 다양하게 진행되어 왔는데, 그 중 痰을 치료하기 위한 方劑중 竹瀝湯은 逐痰走竅 · 和表通絡의 효능을 갖고 있어 氣痰交阻 · 風火相煽에 사용되어 왔고<sup>1)</sup>, 單味の 竹瀝 또한 벼과에 속한 多年生 常綠喬木 혹은 灌木인 숨대의 신선

한 莖을 火烤灼하여 流出된 液汁을 말하는 것으로 清熱化痰하고 鎮痙利竅시키는 효능이 있어 中風昏迷나 痰涎壅塞한 證들에 응용하고 있다<sup>2-3,10-11)</sup>.

그러나 最近 대나무를 이용한 민간이용법들이 많이 나오고 있는 실정이지만 竹瀝에 대한 研究가 미흡하기 때문에 本 研究者들은 中風 治療劑로 사용되는 韓藥材의 藥理活性 및 免疫系에 대한 研究의 일환으로 그 동안 中風에 사용되어졌던 藥材중 竹瀝湯의 主藥인 竹瀝의 免疫系에 대한 作用을 살펴 보고자 T-lymphocytes 및 腹腔 macrophages에 미치는 影響을 관찰하였던 결과 有意性이 있었기에 보고하는 바이다.

## II. 實驗材料 및 方法

### 1. 材料

#### 1) 藥材

본 실험에 사용한 竹瀝(*Bambusae Caulis in Liquamen*)은 원광대학교 한의과대학 부속 한방병원에서 사용하는 것으로 3,000ml를 구입하여 감압농축한 후, 동결건조하여 분말(이하 BCL이라 함) 79.5mg을 얻어 실험에 사용하였다.

\* 이 연구는 '97년도 보건의료기술연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것임.

## 2) 動物

본 실험에 사용한 mouse는 BALB/c계 18±2g 수컷을 온도 20±3°C, 습도 55±5%, light/dark 12시간의 사육조건에서 1주일 이상 적응시킨 후 사용하였다.

## 3) 試藥 및 器具

실험에 사용한 시약은 DME medium, lipopolysaccharide(LPS, 026:B6), MTT,  $\gamma$ -interferon( $\gamma$ -IFN, Huv-IFN), zymosan, sulfanilamide, lucigenin, propidium iodide, Ficoll-Hypaque, N-Naphthylethylenediamine 2HCl, proteinase K, ribonuclease A는 Sigma Co., RPMI 1640, FBS, trypsin, thioglycollate는 Difco Co., PE/FITC conjugated anti-CD4, anti-CD8, anti-B220 및 anti-Thy1 antibody는 Dainippon Seiyaku Co.를 사용하였으며, 기타 시약은 세포배양용 및 1급 시약을 사용하였다. 사용기구는 multi-well plate(96-well and 24-well, Costar), transwell(Sigma), microplate reader(Dynatech MR5000), CO<sub>2</sub> incubator(Vision scientific Co.), luminometer(Berthold 96LP), flow cytometer (Coulter EPICS-XL)등을 사용하였다.

## 2. 方法

### 1) T-lymphocytes의 apoptosis 測定

마우스 5마리를 1군으로 하여 BCL 25mg/kg을 마우스에 1일 1회씩 7일간 경구투여 한 후, 8일째 마우스의 흉선을 적출하여 Wysocki<sup>4)</sup> 및 Mizel<sup>5)</sup>의 방법으로 T-lymphocytes를 분리하였다. 적출한 흉선을 DPBS-A를 넣은 petri dish에서 잘게 분쇄하고 멸균된 stainless mesh로 여과하여 2회 세척한 다음, 1500rpm에서 10분간 원심분리하였다. 얻어진 세포를 DPBS-A에 재부유시켜 3회 반복 세척한 후 분리한 T-lymphocytes의 생존을 및 총세포수

를 0.2% trypan blue exclusion법으로 hemocytometer로 측정하였다.

T-lymphocytes에 PI buffer(0.1% Na-Citrate+0.2% Triton X-100)에 용해시킨 propidium iodide(10  $\mu$ g/ml) 20 $\mu$ l를 넣어 병냉하에서 30 분간 염색한 후, flow cytometer로 sub-G1 peak를 관찰하였다<sup>6)</sup>.

### 2) Thymocytes 및 Splenocytes의 subpopulation 測定

실험 1)과 동일한 방법으로 thymocytes 및 splenocytes를 분리한 후, 세포부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96-well plate에 1×10<sup>6</sup> cells/ml 농도로 접종하여 thymocytes는 PE-anti CD4/FITC-anti CD8 monoclonal antibody로, splenocytes는 PE-anti B220/FITC-anti Thy1 monoclonal antibody로 이중염색하여 4°C에서 반응시킨 다음, flow cytometer(excitation: 488 nm, emission: 525 nm-FITC, 575 nm-PE)를 이용하여 subpopulation을 측정하였다<sup>6)</sup>.

### 3) 腹腔 macrophages의 phagocytic activity 測定

BCL 500mg/kg을 마우스에 1일 1회씩 7일간 경구투여하였다. 4일째 멸균한 3% thioglycollate 2ml를 복강에 투여하고, 8일째 마우스를 경추탈골하여 도살하였다. 복강에 cold PBS 10ml를 주입하여 복강세포를 수집하고, 4°C에서 1,300 rpm으로 10분간 원심분리하여 RPMI 배지로 2회 세척한 후, 직경 120mm petri dish에 분주하여 CO<sub>2</sub> incubator에서 배양한 다음, 2시간 후에 부착되지 않은 세포를 제거하고, 부착한 세포만을 cell scraper로 모아 macrophages로 사용하였다.

Chemiluminescence 측정은 luminometer를 이용하여 37°C에서 측정하였다. 측정용 microplate(white)의 각 well에 준비된 세포부

유액 50 $\mu$ l와 lucigenin 용액 50 $\mu$ l를 넣고 37°C에서 15분간 전처리한 후 zymosan 용액 30 $\mu$ l를 첨가하여 5분 간격으로 60분 동안 lucigenin chemiluminescence를 측정하였다<sup>7-8)</sup>.

#### 4) 腹腔 macrophages로 부터 생성되는 nitric oxide 測定

실험 3)과 동일한 방법으로 분리한 macrophages를 24 well plate에 well당  $1 \times 10^6$  cells을 분주한 후 각 well에 LPS 1 $\mu$ g/ml와  $\gamma$ -IFN 25 units/ml를 첨가하지 않은 군과 첨가한 군으로 분류하여 37 °C CO<sub>2</sub>-incubator에서 24 시간 배양한 후 생성된 nitric oxide(NO)양을 Griess 시약으로 측정하였다<sup>9)</sup>. 배지 100 $\mu$ l와 Griess reagent(1% sulfanilamide + 0.2% N-Naphthylethyl-enediamine 2HCl + 2.5% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) 100 $\mu$ l를 혼합하여 96 well plate에 넣고 570nm에서 microplate reader로 흡광도를 측정하여 미리 작성한 NaNO<sub>2</sub>의 검량선에 의해 NO양을 측정하였다.

### III. 實驗成績

#### 1. BCL0이 T-lymphocytes의 apoptosis에 미치는 效果

T-lymphocytes의 apoptosis 발생율은 대조군에서  $5.7 \pm 0.7(\%)$ 이었으며, BCL 투여군은  $14.1 \pm 1.2(\%)$ 로 대조군에 비해 현저히 증가하였다. 이는 BCL이 생체내에서 T세포를 apoptosis에 의해 배제하고 있음을 의미하는 것이다(Fig.1, Fig.2).

#### 2. BCL0이 thymocytes의 subpopulation에 미치는 效果

Thymocytes의 subpopulation의 경우 CD4<sup>+</sup> 세포는 대조군에서  $9.1 \pm 0.5(\%)$ 이었으며, BCL

투여군은  $14.4 \pm 1.1(\%)$ 로 대조군에 비해 CD4<sup>+</sup> 세포의 population이 증가되었다.

CD8<sup>+</sup> 세포는 대조군에서  $3.3 \pm 0.6(\%)$ 이었으며, BCL 투여군은  $1.4 \pm 0.3(\%)$ 로 대조군에 비해 CD8<sup>+</sup> 세포의 population이 감소되었다. 이는 BCL이 T<sub>H</sub> 세포의 population은 증가시키고 T<sub>C</sub> 세포의 population은 감소시켰다는 결과로 BCL이 T 세포중 helper T 세포의 population을 증가시켜 T 세포에 의해 매개되는 면역능을 조절하고 있음을 시사하는 것이다(Fig.3).

#### 3. BCL0이 Splenocytes의 subpopulation에 미치는 效果

Splenocytes의 subpopulation 경우 대조군의 B세포는  $42.1 \pm 0.6(\%)$ , T세포는  $23.7 \pm 2.3(\%)$ 이었으며, BCL 투여군에서 B세포는  $43.7 \pm 1.1(\%)$ , T세포는  $26.5 \pm 2.1(\%)$ 로 대조군과 별 차이가 없었다. 이는 BCL이 splenocytes의 population에 별 영향을 주지 않음을 시사하는 것으로 BCL은 생체내에서 splenocytes보다는 thymocytes에 영향을 주어 면역능을 조절하고 있음을 의미하는 것이다(Fig.4, Fig.5).

#### 4. BCL0이 腹腔 macrophage의 phagocytic activity에 미치는 效果

복강 macrophage의 phagocytic activity를 측정한 결과, 대조군에 비해 BCL 투여군은 phagocytic activity가 현저히 증가하였다(Fig.6).

#### 5. BCL0이 腹腔 macrophage의 nitric oxide 생성에 미치는 效果

복강 macrophage에서 생성되는 NO 양은 대조군에서  $9.8 \pm 0.3 \mu$ M 이었으며, BCL을 투여한 군은  $13.5 \pm 0.4 \mu$ M로 대조군에 비해 NO 생성이 증가하였다. 이는 실험 4)의 결과와도

유사한 결과로 BCL이 복강 macrophage를 활성화 시키고 있음을 의미하는 것이다(Fig.7).

#### IV. 考察

風의 屬性이 百病之長이면서 善行數變하고 動을 主管하면서 輕揚開泄하는 性質<sup>21)</sup>이 있기 때문에 內風으로 인한 疾患을 東醫學의으로는 中風이라 하였다. 本 疾患은 發病이 빠르고 그 證 또한 복잡하기 때문에 《素問·風論》에 “風者, 善行而數變”이라하였고, 그 症狀은 卒然昏倒·人事不省·口眼喎斜·半身不遂·言語不利 등이 나타나기 때문에 《素問·陰陽應象大論》에서는 “風勝則動”, 《素問·至真要大論》에서는 “諸暴強直 皆屬於風”이라 하였다<sup>14)</sup>. 中風을 일으키는 원인에 대해서는 역대 많은 醫家들이 다방면으로 설명하고 있는데, 唐·宋以前에는 “內虛邪中”으로 眞氣가 부족하고 脈絡이 空虛된 후에 風邪가 虛한 틈을 타서 침입한 것이라고 인식하였고, 金·元時代 劉河間은 “心火暴盛”으로, 李東垣은 “正氣自虛”로, 朱丹溪는 “濕熱生痰”으로, 明代 張景岳은 “內傷積損”으로, 清代 葉天士는 “陰虛陽亢”으로, 王清任은 “氣虛血瘀”로 설명하였고<sup>1,12-13)</sup>, 證에 있어서는 肝陽化風證·熱極生風證·陰虛動風證·血虛生風證으로<sup>15)</sup>, 中經絡·中臟腑 兩種類로<sup>12)</sup>, 또한 半身不遂와 言語不利의 後遺症을 證에 포함시키기도 하였다<sup>13)</sup>. 또한 中風을 치료할 때는 發病原因과 病機·病證들이 다양하기 때문에 先標後本의 息風清火·豁痰通絡과 救陰回陽固脫시키는 治法들을 이용한 羚羊鉤藤飲·至寶丹·竹瀝湯·補陽還五湯등을 사용하여 왔다<sup>16)</sup>.

西醫學의으로 中風은 腦血流疾患에 속하는 것으로 그 病理過程을 보면 혈관벽의 모든 이상, 혈전 또는 색전에 의한 혈관폐색, 혈관의 파열, 혈압강하로 인한 뇌순환부전, 血管內徑

의 변화, 혈관벽의 투과성의 변화, 혈액점도의 증가 또는 기타 血液性狀의 변화등으로 일어나기 때문에 血栓症·塞栓症·梗塞症등으로 분류된다. 血栓症은 죽종과 같은 혈관벽의 병변이나 주위염증과정에서 나온 독소, 혈관의 국소압박등으로 인하는 혈관내피의 손상과 혈류감소·교란등의 혈류변화, 그리고 혈소판·Fibronogen·Prothrombin의 증가·혈소판 유착능의 변화로 인하는 혈액구성 성분의 변화로 일어나기 때문에 혈류감소·조직장기에 허혈성손상·색전형성을 일으킨다. 또한 塞栓症은 혈관내에서 떨어져 나온 고형물질, 액체성분 또는 기체성분으로 구성된 덩어리가 혈관을 막어버리는 병변이고, 梗塞症은 동맥혈의 공급이나 정맥혈의 순환이 갑자기 장애를 받아 장기나 조직의 일부분에 허혈성 괴사를 일으키는 것을 말하는 것으로 혈전증이나 색전증으로 일어나며 대부분 동맥혈을 차단한다<sup>17-20,22)</sup>. 이러한 이유로 腦血流疾患에서 나타날 수 있는 臨床症狀들로서는 片麻痺外에도 無感覺, 知覺消失, 嚥下困難, 視力消失, 複視, 現기증, 構音障礙(dysarthria)등이 나타난다<sup>22)</sup>.

竹瀝에 대하여 《備急千金要方》에서는 四肢不遂·心神恍惚·不知人·不能言의 症狀이 나타날 때 竹瀝 二升·生薑汁 一升·生薑汁 三合을 넣어 따뜻하게 하여 服用하라<sup>23)</sup>고 하였던 竹瀝湯의 主藥으로서 그 起源은 禾本科에 속한 多年生 常綠喬木 혹은 灌木인 蓍대의 신선한 莖을 火烤灼하여 流出된 液汁으로서 그 採取時期는 대부분 신선한 蓍대 莖을 30~50cm 내외로 切斷하되 兩端의 皮를 제거하고 劈開하여 그 중심부분을 加熱하면 汁液이 流出되는데, 이를 容器에 모은 것을 말한다. 그 效能은 清熱通氣시키고 通竅逐痰시키기 때문에 中風痰迷·高熱驚厥·神昏不語·驚癇癲狂등에 모두 사용할 수 있는 藥材로 알려져있지만, 다른 한편에서는 《本草備要》에서와 같이 養血益陰시키는 작용이 있어 血虛自汗에도 사용할

수 있다라고 하였다. 또한 竹瀝을 單味劑로써 사용한 歷代 文獻들을 살펴보면 《千金方》에서는 “中風口噤不知人”에 사용할 수 있다 하였고, 《中草藥學》에서는 流行性腦炎의 高熱嘔吐에 茶 代用으로도 사용할 수 있다 하였다 (2,10-11)

이렇듯 竹瀝의 效果가 中風治療劑로써 歷代 文獻에서 收錄되어 있음에도 불구하고 韓醫學界의 연구는 아직까지 미흡한 실정이다. 그리하여 그 동안 간혹 民間療法으로써 대나무를 이용한 방법들이 발표되고 있어 本 研究者들은 竹瀝이 養血益陰을 시킬 수도 있다는 것에 着眼하여 腦血流改善 뿐만아니라 免疫系에 대한 作用도 있을 것으로 思料되는 바 本 課題에서는 T-lymphocytes 및 腹腔 macrophages 에 미치는 影響을 관찰하기로 하였다.

면역세포중에는 대표적으로 T cell과 B cell 이 있는데, T cell은 血液 뿐만아니라 末梢 림프組織에도 存在하는 것으로 細胞性免疫機能 (臟器移植時의 拒否反應 및 腫瘍에 대한 免疫反應等)과 免疫反應을 調節하고, B cell은 血液·骨髓 및 림프組織에 分布하는 것으로 림프구의 10~20%를 차지하며 면역글로블린(Ig)을 갖고 있다<sup>36)</sup>.

또한 細胞의 增殖을 抑制하는 方法에는 necrosis와 apoptosis가 있는데, apoptosis란 necrosis(세포괴사)와는 대조되는 용어로 正常 細胞內에서 홀어져있는 單一細胞의 壞死機轉을 說明한 것이다. 즉 쓸모없는 非正常的인 細胞가 죽고 消滅해가는 生理的인 過程을 말하는 것으로 그 過程은 세포질과 핵의 농축, apoptotic bodis로 붕괴, phagocytosis에 의해 소화되며, 임상적으로는 成人臟器의 크기를 維持시켜주고, Organ atrophy와 세포를 제거시켜주는 意義를 갖는 한편, necrosis는 非可逆的 傷害의 形態學的 變化中의 하나로 細胞나 細胞集團이 죽어서 여전히 生體의 한 部分을 形成하는 것을 말하는 것인데, 그 過程은 독성

물질이나 산소부족에 의하여 세포막투과성이 항진되고 세포내로 물이 들어가서 팽윤되며 mitochondria 내로 Ca<sup>2+</sup> 유입이 일어나 ATP 생성이 저하됨으로써 에너지 부족의 결과로 호산성이 증가하고 핵융해, 핵붕괴등의 세포사가 일어난다<sup>24-27)</sup>. 이를 圖表化하면 Table I 과 같다.

Table I. Necrosis와 Apoptosis의 비교

	Apoptosis	Necrosis
Stimuli	physiological	Pathological
Occurrence	Single cells	Group of cells
Cytoplasmic organeiles	Late stage swelling	Very early swelling
Lysosomal enzyme release	Absent	Present
Nucleus	Convolution of nuclear outline and breakdown (karvorrhesis)	Disappearance (Karyolysis)
Nuclear chromatin	Compaction in uniformly dense masses	Clumping not sharplydefind
DNA breakdown	Internucleosomal	Randomized
Cell	Formationof apoptotic bodis	Swelling and later disintegration
Phagocytosis by other cells	Present	Absent
Exudative inflammation	Absent	Present

한편 nitric oxide(NO)는 L-arginine에 NO-synthetase (NOS)가 작용하여 생성되는 것으로 NOS는 constitutive NOS (cNOS)와 inducible NOS(iNOS) 2 종류가 있으며 cNOS는 vascular endothelium 및 brain에서, iNOS는 활성화된 macrophage 및 여러 세포에서 발견되었다<sup>28)</sup>. NO의 作用은 血管弛緩作用·血壓調節機能·血小板에 의한 血栓症의 抑制作用·神經細胞의 情報傳達機能등이 있는 것<sup>29-34)</sup>으로 알려져 있는데 이를 뒷받침이라도 하

듯 Harbrecht<sup>35)</sup>는 Endotoxin에 의해 NO의 생성이沮害된다라고 보고하였다. 이렇게 볼 때 NO는 血栓症과 같은 血液循環障礙의 發生을 抑制할 것으로 思料된다.

血流變化와 免疫力에도 變化를 보일 것으로 思料된 竹瀝을 이용하여 T lymphocyte의 apoptosis와 subpopulation·splenocyte의 subpopulation·腹腔 macrophage의 phagocytic activity·腹腔 macrophage로부터 생성되는 nitric oxide를 측정 한 결과 T lymphocyte의 apoptosis는 control에 비하여 有意性 있는 증가를 보였고, subpopulation의 경우에 있어서는 T<sub>H</sub>세포의 population 증가 및 T<sub>C</sub>/T<sub>S</sub> 세포의 population 감소를 나타내었지만 splenocyte의 subpopulation은 별다른 영향을 주지 못하였다. 또한 腹腔 macrophage의 phagocytic activity는 현저히 증가하였고, 腹腔 macrophage로부터 생성되는 nitric oxide의 濃도 有意性 있게 증가하였다.

이러한 結果들은 竹瀝이 T lymphocyte중의 T<sub>H</sub>세포와 macrophage의 phagocytic activity를 활성화시켜 免疫力을 增加시킬 뿐만아니라 NO를 증가시켜 血栓症 豫防에도 效果를 있을 것으로 思料된다.

## V. 結論

竹瀝을 經口投與하고 mouse thymocytes 및 peritoneal macrophages에 미치는 영향을 관찰한 結論은 다음과 같다.

1. 竹瀝은 thymocytes의 apoptosis를 촉진하였으며, thymocytes 중 T<sub>H</sub> 세포는 증가시켰으며, T<sub>C</sub> 세포는 감소시켰다.
2. 竹瀝은 BCL lenocytes의 B 및 T 세포 population에 대해 영향을 주지 않았다.
3. 竹瀝은 peritoneal macrophages의 nitric

oxide 생성 및 phagocytic activity를 증가시켰다.

이상의 實驗結果는 竹瀝이 helper T 세포의 population을 증가시키고, macrophage를 활성화시켜 免疫力을 조절할 수 있음을 시사하는 것이다.

## 參考文獻

1. 김중석역: 뇌졸중의 예방과 치료(현대의학-한의학 결합), 유성출판사, p.11, 151, 1996
2. 辛民敎 : 원색임상분초학, 서울 영림출판사, p.639, 1988
3. 보건사회부: 대한약전의 한약규격집 p.340, 1987
4. L.J. Wysocki and V.L. Sato: Planning for lymphocytes: A method for cell selection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 75, 2844 (1978)
5. S.B. Mizel, J.J. Openheim and D.L. Rosensteich: Characterization of lymphocyte-activating factor(LAF) produced by the macrophage cell line P388D1. *J. Immunol.*, 120, 1497 (1979)
6. I. Nicoletti, G. Migliorati, M.C. Pagliacci, F. Grignani and C.A. Riccardi: Rapid and simple method for mesuring thymocyte apoptosis by propidium iodide staining and flow cytometry. *J. Immunol. Methods*, 139, 271 (1991)
7. A.L. Blair, I.A. Cree, J.S. Beck and M.J.G. Hating: Measurement of phagocyte chemiluminescence in a microtiter plate format. *J. Immunol. Methods*, 112, 163 (1988)
8. F. Boudard, N. Vallot, C. Cabaner and M. Bastide: Chemiluminescence and nitrite determinations by the MALU macrophage cell line. *J. Immunol. Methods*, 174, 259 (1994)
9. K.A. Rockett, M.M. Awburn, W.B. Cowden and I.A. Clark: Killing of Plasmodium falciparum in vitro by nitric oxide derivatives. *Infect. Immunity*, 59(9), 3280 (1991)
10. 程紹恩外 3人 : 中藥心法, 北京, 北京科學技術出版社, pp.277-278, 1990
11. 新文豐出版公司 : 新編中藥大辭典, 臺北, 新文豐出版公司, pp.795-796, 1978
12. 具本泓外 4人 : 東醫內科學, 富川 書苑堂, pp. 193-199, 1985
13. 戴錦成 : 中醫雜病論治, 福建, 福建科學技術出版社, pp.264-273, 1995
14. 楊維傑 : 黃帝內經素問靈樞譯解, 서울, 成輔社, p.47,320,662, 1980
15. 柯雪帆 : 中醫辨證學, 上海, 上海中醫學院出版社, pp.176-179, 1987
16. 孟景春·周仲瑛 : 中醫學概論, 北京, 人民衛生出版社, pp.401-403, 1987
17. 김상호외 4인 : 일반병리학, 서울, 고문사, pp.40-49, 1995
18. 이중달 : 기본병리학, 서울, 고려의학, pp.54-67, 1991
19. 대한병리학회 : 병리학, 서울, 고문사, pp.112-134, 1994
20. 이중달 : 그림으로 설명한 병리학, 서울, 고려의학, pp.127-140, 1990
21. 宋鷺水 : 中醫病因病機學, 北京, 人民衛生出版社, pp.86-87, 1987
22. 이문호외 2인 : 내과학, 서울, 학림사, pp.1825-1827, 1986
23. 孫思邈 : 備急千金要方, 北京, 人民衛生出版社, p.167, 1982
24. McConkey, D.J. et al : Cellular signaling in programmed cell death(apoptosis). *Immunol. Today.*, 11, 120~121 (1990)
25. Smith, C.A., Williams, G.T., Kingston, E., Jenkinson, J. and Owen, J.J.T. : Antibodies to CD/T-cell receptor complex induce death by apoptosis in immature T cells in thymic cultures. *Nature*, 337, 181~184 (1989)

26. Zamzami, N., Marchetti, P., Castedo, M., Zanin, C. Vayssiere, J.L., Petit, P.X. and Kroemer, G. : Reduction in mitochondrial potential constitutes an early irreversible step of programmed lymphocyte death in vivo. *J. Exp. Med.*, 181, 1661~1672 (1995)
27. Zhou, T., Edwards, C.K. and Mounts, J.D. : Prevention of aged-related T cell apoptosis defect in CD2-fas-transgenic mice. *J. Exp. Med.*, 182, 129~137 (1995)
28. Nathan, C. : Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J.*, 6, 3051~3064 (1992).
29. Garthwaite, J., Charles, S.L. and Chess-Williams, R. : Endothelium-derived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggests role as intercellular messenger in the Brain. *Nature*, 336, 385~388, 1988
30. Hibbs, J. B., Taintor, R. R., Vavrin, Z and Rachlin, E. M. : Nitric oxide : A cytotoxic and activated macrophage effector molecule. *Biochem Biophys Res Commun*, 157, 87~94, 1988
31. Kubes, P., Kanwar, S., Niu, X. and Gaboury, J. P. : Nitric oxide synthesis inhibition induced leukocyte adhesion via superoxide and master cell. *FASEB Journal*, 7, 1293~1299, 1993
32. Palmer, P. M. J., Ferrige, A. G. and Moncada, S. : Nitric oxide release accounts for the biology activity of endothelium derived relaxing factor. *Nature*, 327, 524~526, 1990
33. Shibuki, K. and Okada, D. : Endogenous nitric oxide release required for long term synaptic depression in the cerebellum. *nature*, 349, 326~328, 1991
34. Stuehr, D. J. and Nathan, C. F. : Nitric oxide macrophage product responsible for cytostasis and respiratory inhibition in tumor target cells. *J. Exp. Med.* 169, 1543~1555, 1989
35. Harbrecht, B. G., Billiar, T. R., Stadler, T., Demetris, A. J., Ochoa, J. B., Curran, R. D., Simmons, R. L. : Nitric oxide synthesis serves to reduce hepatic damage during acute murine endotoxemia. *Critical Care Medicine*, 20, 1568~1574, 1992
36. 하대유의 25인 : 그림으로 본 면역학, 서울 교문사, pp.17-20, 1994



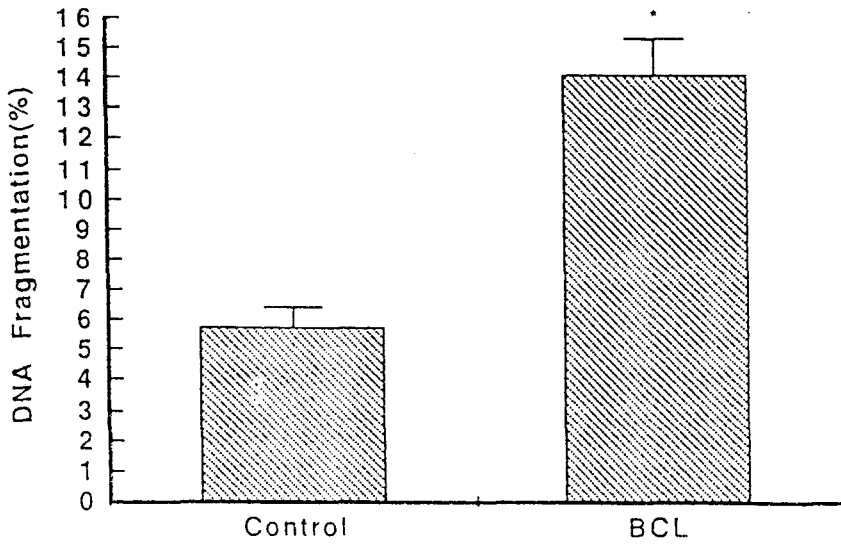


Fig. 1. Effect of *Bambusae Caulis in Liquamen*(BCL) on DNA fragmentation of mouse T-lymphocytes.

BCL(25mg/kg) was administered *p.o.* for 7 days. T-lymphocytes were prepared from BALB/c mice thymus. The cells were lysed in a hypotonic solution mixed with propidium iodide. DNA fragmentation was analysed with flow cytometer.

Each bar represents the mean  $\pm$  SE of 5 mice.

\*; Significantly different from control group( $P < 0.01$ ).

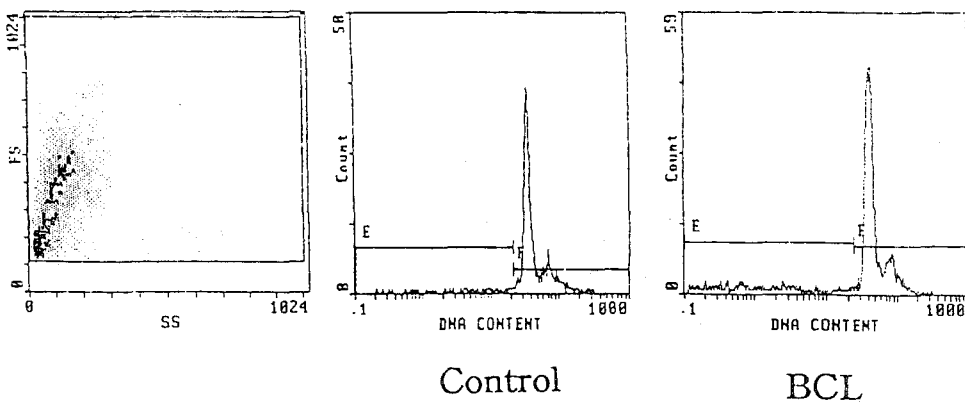


Fig. 2. Histogram of T-lymphocytes DNA fragmentation induced by BCL.

DNA fragmentation; excitation: 488nm, emission: 620nm

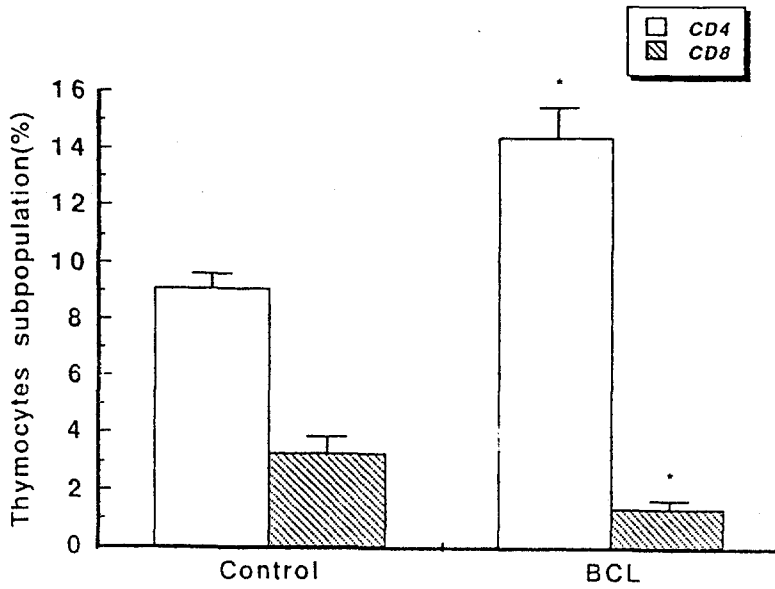


Fig. 3. Effect of BCL on subpopulation of mouse thymocytes.

The subpopulation of thymocytes were determined by flow cytometry after staining with CD4-PE and CD8-FITC mAbs.

\*; Significantly different from control group(P<0.05).

Each bar represents the mean  $\pm$  SE of 5 mice.

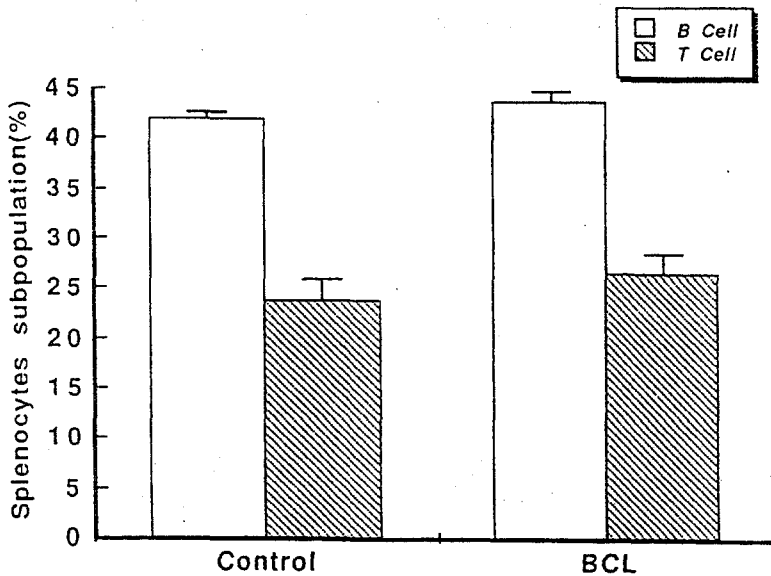
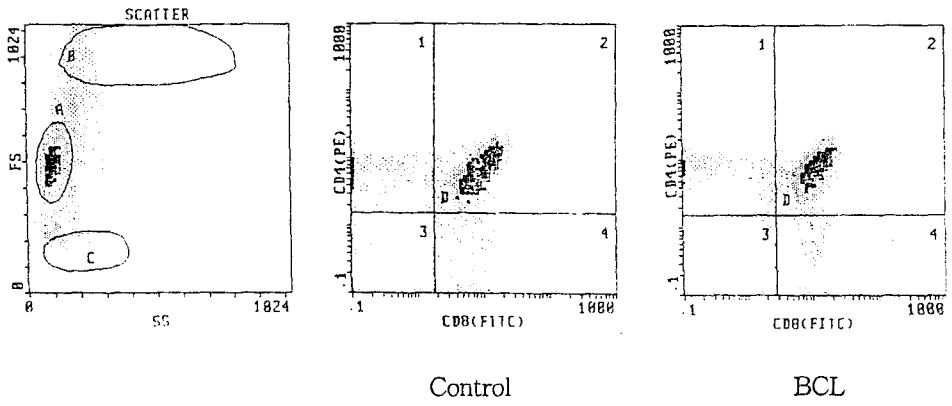


Fig. 4. Effect of BCL on subpopulation of mouse thymocytes.

The subpopulation of thymocytes were determined by flow cytometry after staining with B220-PE and Thy1-FITC mAbs.

Each bar represents the mean  $\pm$  SE of 5 mice.

### Thymocytes



### Splenocytes

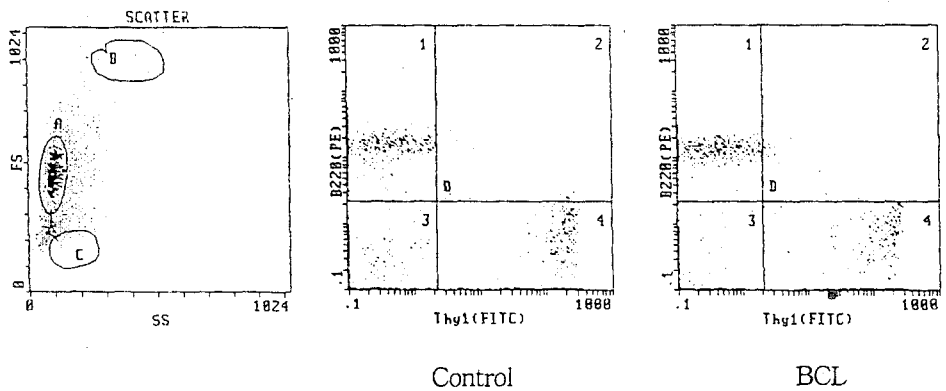


Fig. 5. Histogram of thymocytes and splenocytes population induced by BCL.

Thymocytes: CD4-PE and CD8-FITC mAbs

Splenocytes: B220-PE and Thy1-FITC mAbs

Flow cytometer: excitation; 488nm, emission; PE-575nm, FITC-525nm

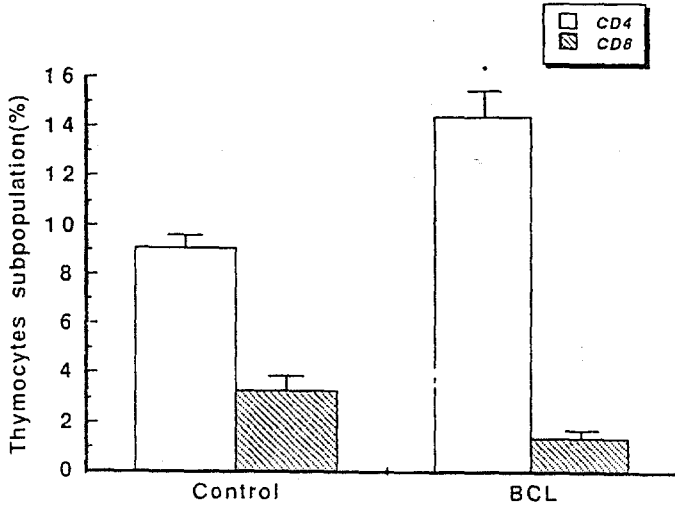


Fig. 6. Effect of BCL on phagocytic activity of mouse peritoneal macrophages. Peritoneal macrophages were cultured in DME media mixed with opsonized zymosan. The chemiluminescence was measured with luminometer at 5 min. intervals for 60 minutes. Each point represents the mean from 3 experiments.

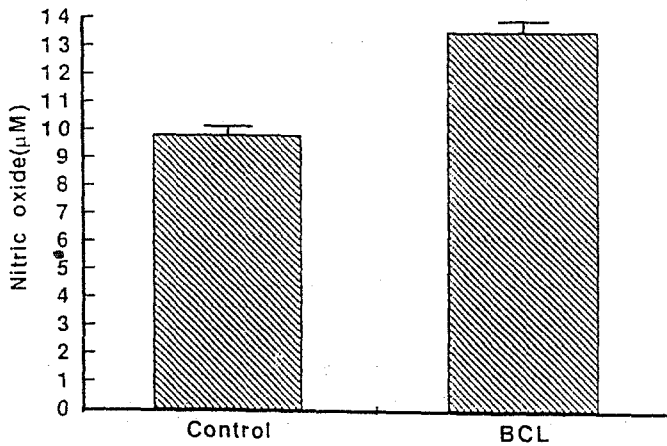


Fig. 7. Effect of BCL on nitric oxide production from mouse peritoneal macrophages. BCL was administered *p.o.* for 7 days, and 3%-thioglycollate was injected *i.p.* at the 4th day. Peritoneal macrophages obtained after 2 hrs. adherence period were cultured in RPMI1640 media with LPS and  $\gamma$ IFN. Each bar represents the mean  $\pm$  SE of 5 mice. \*; Significantly different from control group ( $P < 0.01$ ). Normal; Nitric oxide ( $\mu$ M); LPS and  $\gamma$ IFN non-treated group ( $1.8 \pm 0.3$ ).

ABSTRACT

**Effect of *Bambusae Caulis in Liquamen* on  
T-lymphocytes and Peritoneal Macrophages**

<sup>1</sup>College of Oriental Medicine, DongShin University, Naju 520-714,

<sup>2</sup>College of Oriental Medicine, WonKwang University, Iksan 570-749,

<sup>3</sup>College of Medicine, Pusan University, Pusan 609-735,

<sup>4</sup>College of Natural Science, WooSuk University, Samrye 565-701,

<sup>5</sup>College of Pharmacy, WooSuk University, Samrye 565-701, Korea

Hyun-Woo Jeong<sup>1</sup>, Sung-Yong Kang<sup>1</sup>, Jong-Hyun Han<sup>2</sup>,  
Won-Suk Lee<sup>3</sup>, Chan-Ho Oh<sup>4</sup> and Jae-Soon Eun<sup>5</sup>

The purpose of this research was to investigate effects of *Bambusae Caulis in Liquamen*(BCL) on T-lymphocytes and peritoneal macrophages in mice. The apoptosis and subpopulation of T-lymphocytes were tested using a flow cytometer. The phagocytic activity of mouse peritoneal macrophage was tested using a luminometer. Nitric oxide production was tested using a Griess reagents. BCL induced T-lymphocytes apoptosis. BCL increased T<sub>H</sub> cells population and decreased T<sub>C</sub> cells population of T-lymphocyte, but did not affect splenocytes subpopulation. BCL increased nitric oxide production and phagocytic activity of peritoneal macrophage in mice. These results suggest that BCL regulates the immune system in consequence of an increase in helper T cell population and macrophages activation.

---

Keywords ; *Bambusae Caulis in Liquamen*, Apoptosis, T-lymphocyte subpopulation, Phagocytic activity, Nitric oxide