

黃芪와 杏仁이 免疫細胞의 Apoptosis 및 Nitric Oxide에 미치는 效果

정현우* 문한주**

I. 緒 論

東醫學에서는 '邪氣'에 대한 防禦能力을 '正氣'로 표현하고 있는데, '正氣'는 各種의 臟腑組織器官의 機能活動을 正常的으로 維持케함으로써 病邪에 대해 抗病力을 갖도록 하는 抵抗力이라 말할 수 있고, '邪氣'는 人體를 發病케하는 各種의 發病要因과 病理的 損傷因子라 말할 수 있다. 즉, '正氣'가 強하면 強할수록 '邪氣'에 대한 抵抗力이 強해져 비록 '邪氣'가 침범하여도 '正氣'가 이를 방어하고, '正氣'가 약하면 약할수록 '邪氣'에 대한 對處能力이 저하되어 쉽게 發病하게 된다고하여 '正氣'의 重要性을 설명하고 있다. 또한 西醫學에서는 이러한 '正氣'의 觀點을 免疫으로 설명하고 있는데, 免疫은 人體內에 異物質이 침입하거나 變異細胞가 발생하면 Immune system이 관여하여 異物은 물론 새로이 발생된 變異細胞를 非自己로 인식하여 처리하는 能力을 발휘함으로써 個體의 恒常性을 維持하려는 현상을 말한다. 免疫의 종류는 先天的 免疫과 特異性 免疫으로 나뉘어지고, 免疫系는 림프구계통과 골수구계통으로 나뉘어지며, 림프구 계통의 면역계는 T cell·B cell들이 있고, 골수구 계통의 면역계는 Macrophage·NK cell·수지상 세포·랑게르한스 세포등이 있다.

* 東新大學校 韓醫科大學 病理學教室

** 부부 한의원 원장

그 중 T cell은 血液 뿐만아니라 末梢림프組織에도 存在하는 것으로 胸腺의 T 전구세포로부터 생성되어 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 태생기때는 태아의 肝에서, 그리고 출생후에는 骨髓에서 分化되어 림프구의 10~20%를 차지하며 면역글로블린(Ig)을 갖고 있다⁵⁻⁶. Macrophage는 結合組織 뿐만아니라 肝臟과 骨髓등의 血管에서 특수한 內皮細胞로서 존재하는 것으로 自他的 認識으로 老化하거나 傷害를 받은 自己細胞·侵入 微生物 또는 異物을 탐식하여 生體의 恒常性을 유지시켜주고, 또한 免疫活性物質을 생산하여 自然免疫反應에 중요한 기능을 하고 있다²²⁻²⁴. Nitric oxide(NO)는 macrophage 및 好中球外에 貪食作用등에 관여하는 신체의 여러종류의 細胞에서 分비되는 것으로 그 중 macrophage와 血管內皮細胞등에서 生産되는 NO는 腫瘍細胞의 增殖을 抑制하는 것으로 알려져있고²⁰⁻²¹, 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 갖는다²⁵⁻²⁸).

그리하여 東醫學으로 補氣藥物로 대표되는 黃芪와 有毒한 藥物이지만 潤腸機能이 있어 虛秘나 産後便秘에 이용되는 杏仁을 선택하여 免疫細胞의 機能들에 미치는 영향을 관찰한 결과 有意한 효과가 있어 報告하는 바이다.

II. 研究材料 및 方法

1. 材 料

1) 動物

本 實驗에 사용한 mouse는 대한실험동물에서 구입한 Balb/c계 22 ± 1 (g) 수컷을 온도 20 ± 3 ($^{\circ}\text{C}$), 습도 55 ± 5 (%), light/dark 12(hr)의 사육 조건에서 1주일 이상 적응시키면서 고형 pellet 사료와 물을 자유로이 섭취케하였다.

2) 藥材

本 研究에 사용할 黃芪와 杏仁 각 50g에 증류수 500ml를 加하여 加熱抽出한 후 여과하여 rotary evaporator로 농축한 다음 freeze dryer로 동결건조하여 각각 분말 21.7mg과 20.6mg을 얻었다. In vivo에서는 생리식염수에 용해시켜 사용하였고, In vitro에서는 3차 증류수에 용해하여 membrane filter로 여과멸균하여 사용하였다.

2. 方 法

1) 細胞 培養條件 및 MTT assay

마우스 胸腺 및 脾臟細胞의 培養은 RPMI 1640 배지를 사용하였고, MTT法은 Mosmann¹⁴⁾이 개발하여 Kotnik¹⁵⁾등이 변형시킨 방법으로 하

였다. 즉, 細胞를 96-well plate의 각 well에 세포 부유액 100 μl 를 접종하여 37 $^{\circ}\text{C}$ 의 CO₂ incubator에서 24시간 배양한 후 농도별로 희석된 약제 100 μl 를 넣고 37 $^{\circ}\text{C}$ 의 CO₂ incubator에서 48시간 배양하였다. 배양 종료 4시간 전에 5mg/ml 농도로 DPBS-A에 희석된 MTT용액 20 μl 를 각 well에 첨가하고 배양 종료시까지 은박지로 빛을 차단하였다. 배양 종료시 0.01N HCl에 용해시킨 10% SDS 100 μl 를 각 well에 첨가하고 차광상태에서 18시간 더 배양한 후 發色된 각 well의 흡광도를 Microplate-Reader로 570nm에서 측정하여 對照群의 흡광도와 비교하여 세포 증식율을 백분율로 환산하였다.

2) 마우스 胸腺 및 脾臟細胞의 分離

마우스의 胸腺 및 脾臟細胞 분리는 Wysocki¹⁶⁾ 및 Mizel¹⁷⁾등의 방법을 이용하였다. Balb/c 마우스를 경추탈골하여 도살시킨 후 적출한 胸腺 및 脾臟을 DPBS-A를 넣은 petri dish에서 잘게 분쇄하고 stainless mesh로 여과하여 2회 세척한 다음 10ml 주사기로 조심스럽게 세포부유액을 취하여 1,500rpm에서 5분간 원심분리하였다. 얻어진 세포를 DPBS-A에 재부유시켜 3회 반복 세척한 후 胸腺 및 脾臟細胞를 분리하였으며, 분리한 胸腺 및 脾臟細胞의 생존율 및 총 세포수를 hemocytometer를 이용하여 측정하였다.

3) 胸腺 및 脾臟細胞의 增殖率 變化

2)와같이 胸腺細胞와 脾臟細胞를 측정한 후 세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96-well plate에 1.0×10^6 cells/ml 농도로 접종하였다. 그 다음 胸腺細胞에는 Concanavalin A 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 脾臟細胞에는 Lipopolysaccharide 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 와 함께 약제를 첨가한 후 37 $^{\circ}\text{C}$ 의 CO₂ incubator에서 48시간 배양한 다음 배양 종료 4시간 전에 MTT시약을 가하여 1)과 같이 MTT

assay로 측정하였다.

4) 마우스 腹腔 macrophage의 분리 및 nitric oxide 생성에 미치는 영향

In vitro상에서는 3% thioglycollate 2ml를 腹腔에 투여한 다음 3일 후에 마우스를 경추탈골하여 도살시킨 다음 腹腔에 cold PBS 10ml를 주입한 후 腹腔細胞를 수집하였다. 수집한 세포를 4°C에서 1,500rpm으로 5분간 원심분리하고 RPMI 1640배지로 2회 세척한 후 직경 120mm petri dish에 분주하여 CO₂-incubator에서 배양시키고 4시간 후에 부착되지 않은 세포를 제거한 다음 부착한 macrophage를 cell scraper로 분리하여 24 well plate에 well당 1×10^6 cells을 분주한 후 각 well에 농도별로 약제와 함께 LPS 1 μ g/ml와 γ -IFN 25units/ml를 첨가하지 않은 군과 첨가한 군으로 분류하여, 37°C CO₂-incubator에서 24시간 배양한 후 생성된 nitric oxide (NO)양을 Griess법¹⁸⁾으로 측정하였다.

In vivo상에서는 각각의 약제 500mg/ml를 1일 1회 7일간 마우스에 경구투여한 후 in vitro실험과 동일하게 macrophage를 분리해 NO양을 측정하였다.

배지 100 μ l와 Griess reagent(1% sulfanilamide + 0.2% N-naphthylethylenediamine 2HCl + 2.5% H₃PO₄)100 μ l를 혼합하여 96 well plate에 넣고 570nm에서 Microplate-reader로 흡광도를 측정하여 미리 작성한 NaNO₂의 검량선에 의해 NO양을 측정하였다.

5) T-lymphocytes의 apoptosis 測定

마우스 5마리를 1군으로 하여 각각의 약제 500mg/kg을 마우스에 1일 1회씩 7일간 경구투여한 후, 8일째 마우스의 胸腺을 2)와같은 방법으로 T-lymphocytes를 분리하였다. 적출한 胸腺을 DPBS-A를 넣은 petri dish에서 잘게 분쇄하고 멸균된 stainless mesh로 여과하여 2회 세척한 다음, 1,500rpm에서 10분간 원심분리하

였다. 얻어진 세포를 DPBS-A에 재부유시켜 3회 반복 세척한 후 분리한 T-lymphocytes의 생존율 및 총세포수를 0.2% trypan blue exclusion法으로 hemocytometer로 측정하였다.

T-lymphocytes에 PI buffer(0.1% Na-Citrate + 0.2% Triton X-100)에 용해시킨 propidium iodide(10 μ g/ml) 20 μ l를 넣어 병냉하에서 30분간 염색한 후, flow cytometer로 sub-G1 peak를 관찰하였다¹⁹⁾.

6) Thymocytes의 sub-population 測定

실험 2)와 동일한 방법으로 thymocytes를 분리한 후, 세포부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96-well plate에 1×10^6 cells/ml 농도로 접종한 다음 PE-anti CD4/FITC-anti CD8 monoclonal antibody로 염색하여 4°C에서 반응시킨 다음, flow cytometer(excitation : 488nm, emission ; 525nm-FITC, 575nm-PE)를 이용하여 sub-population을 측정하였다¹⁹⁾.

3. 통계처리

통계처리는 Student's t-test를 이용하였다.

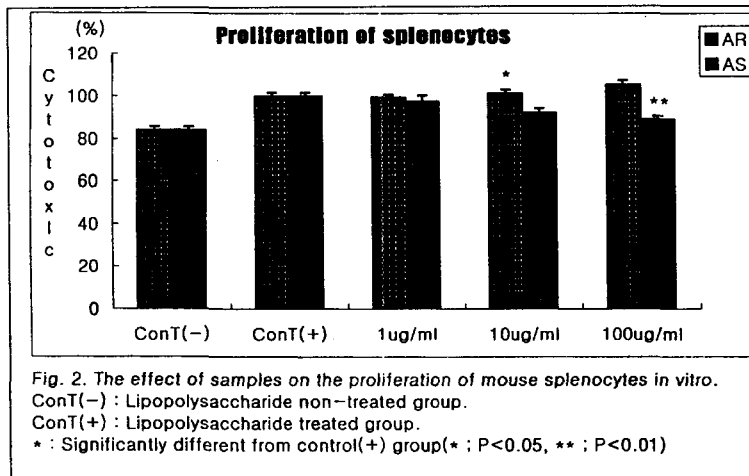
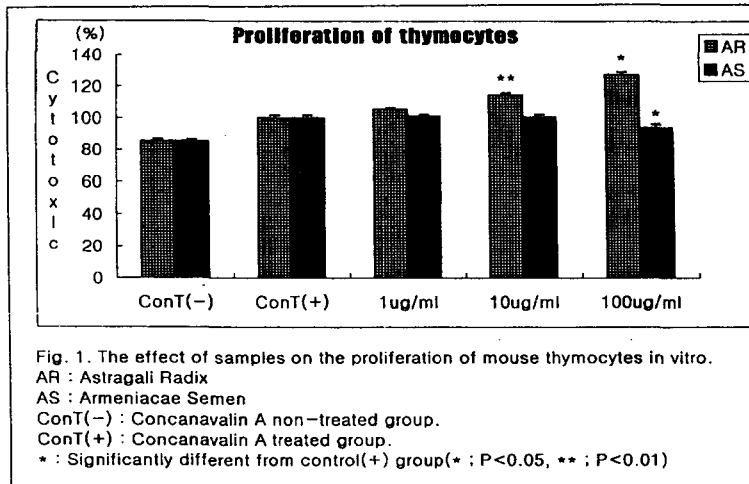
III. 實驗成績

1. 胸腺 및 脾臟細胞의 增殖率에 미치는 影響

黃芪와 杏仁이 免疫細胞에 미치는 影響을 관찰하기 위하여 각 약제를 胸腺細胞와 脾臟細胞에 투여하였다. 胸腺細胞의 경우 각각의 약제에 대한 對照群의 Cytotoxicity를 100(%)로 하였을 때 黃芪를 1, 10, 100 μ g/ml씩 투여한 實驗群은 對照群에 비하여 105, 114, 127(%)로 투여농도

가 증가할수록 胸腺細胞의 증식을 활성화시켰으나 杏仁을 1, 10, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 씩 투여한 實驗群은 對照群에 비하여 101, 100, 94(%)로 투여농도가 증가할수록 胸腺細胞의 증식을 억제하는 細胞毒性을 나타내었다(Fig. 1). 또한 脾臟細胞의 증식에 있어서는 胸腺細胞와 마찬가지로 대조군

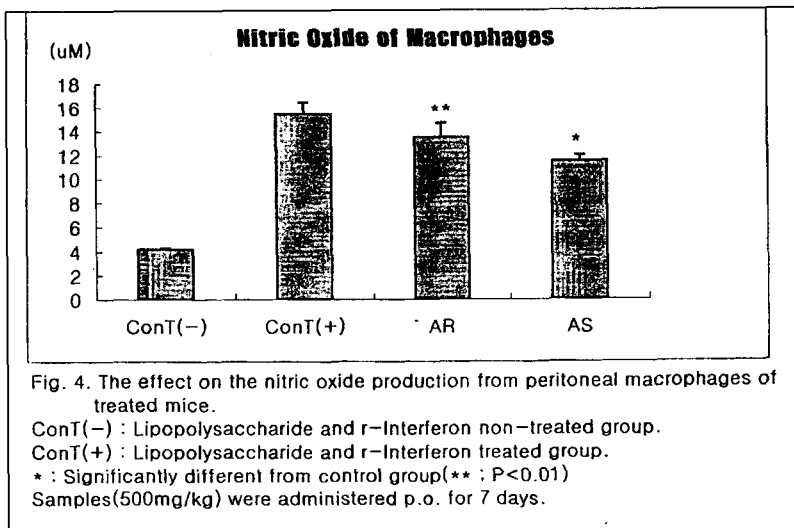
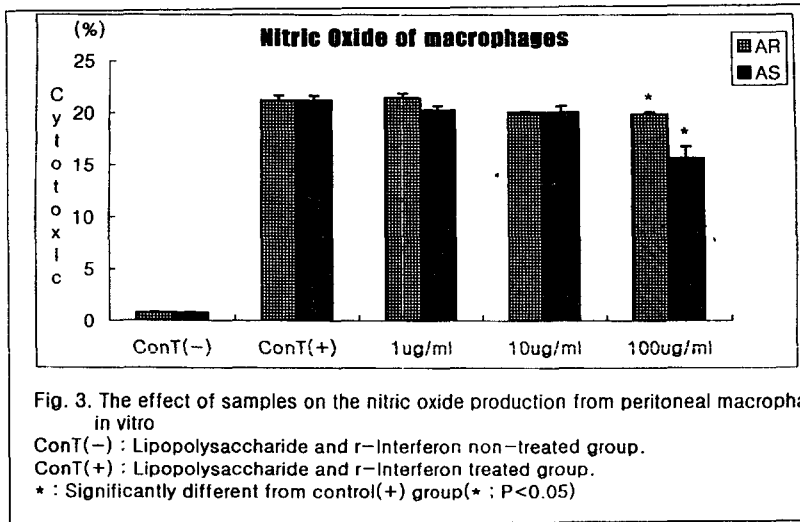
의 Cytotoxicity를 100(%)로 하였을 때 黃芪는 胸腺細胞와 마찬가지로 투여농도가 증가할수록 각각 99, 101, 105(%)로 증가하였으나 有意性은 인정되지 않았고, 杏仁을 투여한 實驗群은 각각 97, 92, 89(%)로 胸腺細胞와 마찬가지로 증식이 억제되었다(Fig. 2)



2. 腹腔 Macrophage에서 생성되는 Nitric Oxide 량에 미치는 影響

黃芪와 杏仁이 腹腔 macrophage에서 생성되

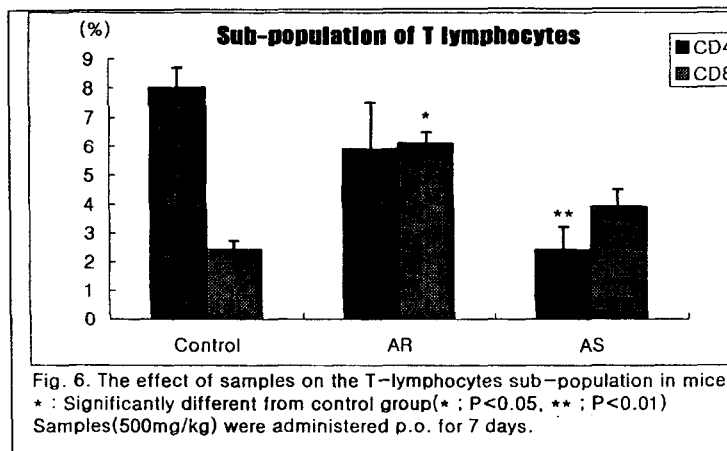
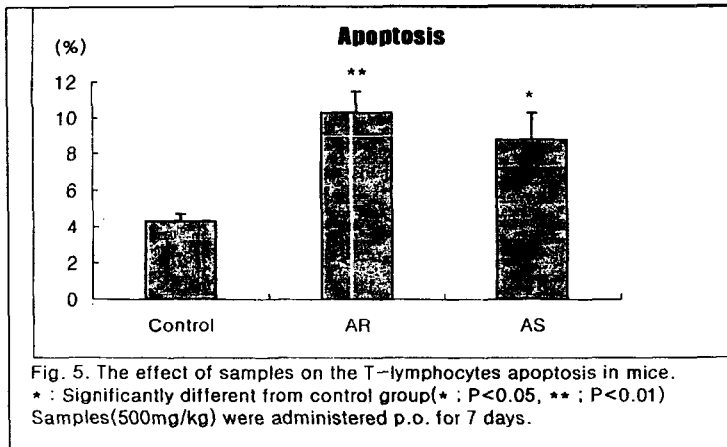
는 NO의 量을 관찰하기 위하여 in vitro와 in vivo로 측정 한 결과 in vitro상에서는 黃芪와 杏仁 모두 對照群에 비하여 감소하는 경향을 나타내었고(Fig. 3), in vivo상에도 in vitro와 마찬가지로 NO의 量이 감소하였다(Fig. 4).



3. T-lymphocytes의 apoptosis 및 sub-population에 미치는 영향

黃芪와 杏仁이 胸腺細胞의 apoptosis와 sub-population에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 7일간 약재 500mg/kg씩 마우스에 경구투여한 후 측정된 결과 apoptosis는 黃芪와 杏仁을 투여하지 않은 對照群의 apoptosis가 4.3(%)인 반면 黃芪를 투여한 實驗群은 10.3(%)로 有意性있게 증가하였고, 杏仁을 투여한 實驗群도 黃

芪의 實驗群과 마찬가지로 8.8(%)로 有意性있게 apoptosis를 증가시켰다(Fig. 5). 또한 sub-population에 있어서는 CD4를 처리한 對照群의 T_H cell population이 8.0(%)였고, CD8를 처리한 Tc cell population은 2.4(%)인 반면 黃芪를 투여한 實驗群의 T_H cell population은 對照群에 비하여 감소하였고, Tc cell population은 對照群에 비하여 증가하였다. 또한 杏仁을 투여한 實驗群도 黃芪를 투여한 實驗群과 마찬가지로 T_H cell population이 2.4(%)로 감소하였지만 Tc cell population은 3.9(%)로 증가하였다(Fig. 6)



IV. 考 察

免疫은 人體內에 異物質의 침입이나 變異細胞가 발생하면 Immune system이 관여하여 異物은 물론 새로이 발생된 變異細胞를 非自己로 인식하여 처리하는 能力을 발휘함으로써 個體의 恒常性을 維持하려는 현상을 말한다. 免疫의 종류는 先天的 免疫과 特異性 免疫으로 나뉘어지고, 免疫系는 림프구계통과 골수구계통으로 나뉘어지는데, 림프구 계통의 면역계에는 T cell · B cell들이 있으며, 골수구 계통의 면역계는 Macrophage · NK cell · 수지상 세포 · 랑게르한스 세포등을 들 수 있다. 그 중 T cell은 血液 뿐만아니라 末梢림프組織에도 存在하는 것으로 胸腺의 T 전구세포로부터 성숙되어 B cell의 증식과 抗體生産을 조절하고 食細胞의 파괴작용을 도와주며, 직접적으로 세포를 살해하는 작용을 한다. 이 세가지중 세포를 살해하는 작용을 가진 세포를 Tc cell(세포독성 T cell)이라고 하는데 이는 자기파괴프로그램에 의해 apoptosis를 촉진시켜준다. 또한 나머지 두 가지 기능을 하고 있는 세포를 T_H cell(협조 T 세포)이라 한다. CD4는 T_H cell의 기능에서만 발현되는 세포표면 표지로서 CD4 양성 T 세포(CD4+)는 T cell 및 B cell의 면역반응을 증강시키는 작용과 CD8 양성세포를 유발시켜준다. 또한 CD8은 Tc cell의 기능상태에서만 발현되는 세포표면 표지로서 CD8 양성 T 세포(CD8+)는 T cell 및 NK cell의 세포독성에 관여한다. B cell은 血液 · 骨髓 및 림프組織에 分布하는 것으로 태생기때는 태아의 肝에서, 그리고 출생후에는 骨髓에서 분화되어 림프구의 10~20%를 차지하며, 항원을 인지한 후에는 항체를 유리시키는 기능을 갖고 있다⁵⁻⁶⁾.

Macrophage는 結合組織 뿐만아니라 肝臟과 骨髓등의 血管에서 특수한 內皮細胞로서 존재

하는 것으로 自他の 認識으로 老化하거나 傷害를 받은 自己細胞 · 侵入 微生物 또는 異物을 탐식하여 生體의 恒常性을 유지시켜주고, 또한 免疫活性物質을 생산하여 自然免疫反應에 중요한 기능을 하고 있다. 또한 macrophage는 임과 구와는 달리 癌의 抗原性 認識이 불가능한 대신 逆으로 非特異的인 여러종류의 腫瘍細胞를 공격할 수 있는 특징도 갖고 있어 腫瘍免疫에서는 가장 중요한 細胞로 알려져 있다²²⁻²⁴⁾. Macrophage가 생산하는 Nitric Oxide(NO)는 interleukin 1 β · γ -interferon · TNF(tumor necrosis factor) α 등과 같은 cytokine類 및 세균의 세포벽에 존재하는 LPS(lipopolysaccharide)등에 의해 유도되는 inducible NO synthase에 의해 형성된다²⁰⁾. 腹腔 macrophage에서 분비되는 NO가 抗癌作用이 있다고 최초로 보고된 것은 1987년 Hibbs 등²⁰⁾이 마우스에 BCG를 접종 후 macrophage를 분리하여 LPS를 첨가하여 배양하였을 때 腫瘍細胞의 增殖이 抑制되었고, 여기에 N-MMA를 가하니 抗癌作用이 없어진다고 한 것이다. 이것은 여러 자극제에 의해 活性化된 macrophage가 정상세포보다는 tumor cell을 선택적으로 파괴할 수 있기 때문에 macrophage-mediated tumor cytotoxicity는 중요한 의미가 있다²¹⁾. 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 흩어져있는 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 과정은 세포질과 핵의 농축, apoptotic bodis로의 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 것

인데, 그 過程은 독성물질이나 산소부족에 의하여 세포막투과성이 향진되고 세포내로 물이 들어가서 팽윤되며 mitochondria 내로 Ca^{2+} 유입이 일어나 ATP 생성이 저하됨으로써 에너지 부족의 결과로 호산성이 증가하고 핵융해, 핵붕괴 등의 세포사가 일어난다²⁵⁻²⁸⁾.

이러한 免疫에 대한 用語에 대하여 東醫學에서는 '正氣'로 표현하고 있는데, 이에 관한 文獻을 考察해보면 「素問」·「調經論」에서는 “百病之生, 皆有虛實”이라고 하였고, 「素問」·「評熱病論」에서는 “邪氣所湊, 其氣必虛”라 하였으며, 「靈樞」·「口門篇」에서는 “邪之所在, 皆爲不足”이라 하였고, 「素問」·「通評虛實論」에서는 “邪氣盛則實, 精氣奪則虛”¹⁾라고 하였다. 즉, 正氣는 各種의 臟腑組織器官의 機能活動을 正常的으로 維持케함으로써 病邪에 대해 抵抗力을 갖는 抵抗力이라 말할 수 있고, 邪氣는 人體를 發病케하는 各種의 發病要因과 病理的 損傷因子를 말하는 것으로 正氣가 強하면 強할수록 邪氣에 대한 抵抗力이 強해져 비록 邪氣가 침범하여도 正氣가 이를 방어하고, 正氣가 약하면 약할수록 邪氣에 대한 對處能力이 저하되어 쉽게 發病하게 된다고하여 正氣의 重要性을 설명하였다.

黃芪는 豆科에 속한 多年生草本인 단너삼의 根으로써 補氣升陽·固表止汗·托毒排膿·利水退腫하는 作用이 있기 때문에 氣虛衰弱한 證 및 癰疽로 인한 正氣不足 或은 久不潰破 或은 潰久不斂한 證들에 應用되며, 최근에 이르러서는 胃나 十二指腸潰瘍 및 慢性白血球減少症·癌腫으로 인한 食欲不振등의 氣虛證·骨髓癌등에도 이용된다. 杏仁은 薔薇科에 속한 살구나무의 成熟한 果實中 種子를 사용하는 것으로 止咳定喘·潤腸通便하는 作用이 있어 老人이나 虛人의 津液枯燥 便秘나 產後便秘에 사용되지만 有毒한 藥물이기 때문에 多量의 服用과 大便泄瀉를 하는 사람들은 愼忍해야된다²⁻⁴⁾.

最近에 免疫에 관한 研究動向을 살펴보면 安

7-9)등은 托裏消毒飲이나 養心湯, 그리고 補中益氣湯을 이용하여 免疫反應이나 恢復過程을 살펴보고, 權¹⁰⁾은 生地黃을 이용하여 先天免疫과 適應免疫에 대하여 고찰하였으며, 嚴¹¹⁾은 命門穴과 氣海穴을 이용하여 免疫系에 나타나는 반응을 살폈고, 韓¹²⁻¹³⁾등은 各種의 補益劑와 竹瀝을 이용하여 마우스 thymocytes의 apoptosis 및 腹腔 macrophage에서 생성되는 NO의 量을 살펴보았다.

그러나 黃芪가 氣虛證을 다스리는 대표적인 藥물이고, 杏仁이 虛人이나 產後에 發生되는 便秘에 潤腸시키는 效능을 갖고 있음에도 불구하고 아직까지 이에 免疫反應 및 그 기전을 밝히려는 연구가 시도되지 않아 마우스의 thymocytes와 splenocytes의 proliferation 및 腹腔 macrophage에서 생성되는 NO의 量등을 측정된 결과 有意性이 인정되었고, 또한 thymocytes의 apoptosis와 sub-population을 관찰한 결과도 有意性이 있어 보고하는 바이다.

黃芪와 杏仁이 免疫細胞에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 胸腺細胞와 脾臟細胞에 투여한 결과 黃芪는 투여농도가 증가할수록 胸腺細胞의 증식은 有意性있게 증가한 반면 脾臟細胞의 증식은 증가는 하였지만 有意性은 認定되지 않았다. 또한 杏仁의 경우에 있어서는 胸腺과 脾臟細胞 모두 細胞毒性이 나타나 免疫細胞의 活性化를 억제하였다. 이는 東醫學에서 黃芪를 補氣시킬 수 있는 대표적인 藥물로 설명하고 있는 바와같이 免疫機能을 活性化시키는 반면 有毒한 杏仁은 비록 產後便秘나 虛人의 便秘를 潤腸시킬 목적으로 短期間이나 少量의 사용은 가능하지만 장기간 복용하기에는 어려운 藥物이라 思料된다. 腹腔 macrophage에서 생성되는 NO의 量을 관찰한 결과 NO의 量이 감소하여 黃芪나 杏仁 모두 腹腔 macrophage의 活性化를 촉진시키지 못하는 것으로 思料되고, 黃芪와 杏仁이 胸腺細胞의 apoptosis와 sub-population

에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 7일간 약제 500mg/kg씩 마우스에 경구투여 한 후 측정된 결과 黃芪와 杏仁을 투여한 모든 實驗群에서 apoptosis가 증가하였고, sub-population의 경우에 있어서는 黃芪와 杏仁 모두 T_H cell의 population을 감소시킨 반면 Tc cell의 population은 증가시켰다.

이와같은 결과들을 종합하여 보면 黃芪는 胸腺細胞와 脾臟細胞의 증식을 활성화시키는 동시에 Tc cell의 population 및 胸腺細胞의 apoptosis를 촉진시켰으며, T_H cell의 population 경우에는 감소시켰다. 이는 黃芪가 細胞에 직접적인 細胞毒性을 나타내지 않으면서도 生體內에서는 '正氣'를 보강해 생체리듬을 유지시켜주는 藥物이라는 것을 立證한 것이라 思料된다. 또한 杏仁은 투여량이 증가할수록 胸腺細胞와 脾臟細胞의 증식을 억제하였고, Tc cell의 population을 증가시켰으며, 동시에 胸腺細胞의 apoptosis를 촉진시켰지만 T_H cell의 population을 감소시켰다. 이는 杏仁의 투여량이 많게 되면 직접적으로 細胞에 細胞毒性을 나타내는 有毒한 藥物임을 설명하는 동시에 少量을 사용하게 되면 産後나 虛人들의 便秘를 다스림은 물론 생체리듬에 관하여 정상적인 기능을 할 수 있도록 도와주는 역할을 하는 藥物이라 思料된다. 그리하여 현재 臨床에서 사용하는 바를 현대적 연구기법을 동원하여 살펴본 결과 黃芪는 氣虛일 때 장기간 服用하여도 무난한 藥物이지만 杏仁은 多量이나 過服하였을 경우 직접적으로 正常細胞에도 작용하여 細胞毒性을 나타낼 수 있는 것으로 思料된다.

V. 結 論

이상과 같이 黃芪와 杏仁이 인체의 免疫細胞에 미치는 영향을 살펴본 결과 다음과 같은 結

論을 얻었다.

1. 黃芪는 胸腺細胞와 脾臟細胞의 증식을 활성화시켰다.
2. 杏仁은 胸腺細胞와 脾臟細胞의 증식을 억제하였다.
3. 黃芪와 杏仁은 腹腔 macrophage에서 생성되는 nitric oxide의 量을 억제하였다.
4. 黃芪와 杏仁은 胸腺細胞의 apoptosis를 증가시켰다.
5. 黃芪와 杏仁은 胸腺細胞의 T_H cell의 population을 억제시켰다.
6. 黃芪와 杏仁은 胸腺細胞의 Tc cell의 population을 증가시켰다.

이와 같은 결과들을 볼 때 黃芪는 thymocytes에 有意한 효과가 있어 免疫機能의 活性化에 이용하면 有意할 것으로 思料되며, 杏仁은 虛秘나 産後便秘에 사용되기는 하지만 研究結果등을 통해서 살펴볼 때 過量이나 長期服用하면 免疫機能을 低下시킬 수 있기 때문에 愼用해야 할 것으로 思料된다.

參 考 文 獻

- 1) 楊維傑 : 黃帝內經素問靈樞譯解, 서울, 成輔社, (素問) p. 235, 266, 455, (靈樞) p. 262, 1980
- 2) 辛民教 : 臨床本草學, 서울, 南山堂, pp. 169~71, 564~66, 1986
- 3) 王浴生 : 中藥藥理與應用, 北京, 人民衛生

- 出版社, pp. 983~91, 1983
- 4) 申佶求 : 申氏本草學, 서울, 高文社, pp. 9~12, 479~482, 1988
 - 5) 김상호외 4인 : 일반병리학, 서울, 고문사, pp. 51~54, 348~49, 1995
 - 6) 하대유의 25人 : 免疫學, 서울, 高文社, pp. 1~32, 109~114, 1994
 - 7) 安大宗 : 托裏消毒飲이 마우스의 綿羊赤血球에 대한 免疫反應에 미치는 影響, 裡里, 圓光大學校 大學院, 1980
 - 8) 尹祥熙 : 養心湯이 스트레스와 免疫機能에 미치는 影響, 大田, 大田大學校 大學院, 1996
 - 9) 閔勇泰 : 補中益氣湯의 投與가 紫外線 照射로 低下된 마우스의 免疫機能의 恢復에 미치는 影響, 裡里, 圓光大學校 大學院, 1990
 - 10) 權榮烜 : 生地黃의 投與가 마우스의 先天 免疫 및 適應免疫 反應에 미치는 影響, 益山, 圓光大學校 大學院, 1997
 - 11) 嚴泰植 : 鍼灸刺戟이 생쥐의 免疫系에 미치는 影響, 大邱, 慶山大學校 大學院, 1993
 - 12) 韓宗鉉外 5人 : 數種 補益劑가 免疫細胞의 調節 및 Apoptosis에 미치는 影響, 大韓本草學會誌 Vol. 12 No. 1, pp. 85~93, 1997
 - 13) 鄭鉉雨外 5人 : 竹瀝이 T-lymphocyte 및 腹腔 Macrophage에 미치는 影響, 大韓韓方內科學會誌 Vol. 18 No. 2, pp. 33~45, 1997
 - 14) Mosmann, T. : J. Immunol. methods. p. 55~63, 65, 1983
 - 15) Kotnic, V. and Fleischmann, W. R. Jr. : J. Immunol. methods. p. 23, 129, 1990
 - 16) Wysocki, L. J. and Sato, V. L. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA. p. 75, 2844, 1978
 - 17) Mizel, S.B., Openheim, J. J. and Rosensteich, D. L. : J. Immunol. p. 120, 1497, 1979
 - 18) Rockett, K. A., Awburn, M. M., Cowden, W. B. and Clark, I. A. : Killing of Plasmodium faciparum in vitro by nitric oxide derivatives. Infec. Immunity, 59(9), p. 3280, 1991
 - 19) 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, p. 139, 271, 1991
 - 20) Hibbs, J.B., Taintor, R.R. and Vavrin, Z. : Macrophage cytotoxicity role for L-arginine deaminase and imino nitrogen oxidation to nitrite. Science, p. 235, 473, 1987
 - 21) Nakabo, Y., Harakawa, N., Yamamoto, K., Okuma, M., Uno, K. and Sasada, M. : Leukemic cell lysis by activated human macrophages. Jpn. J. Cancer Res., p. 84, pp. 1174~1180, 1993
 - 22) Biozzi G, Stiefel C, Mouton Bouthillier Y, Deceusefound G A. : Kinetic study of antibody producing cells in the spleen of mice immuized intravenously with sheep erythrocytes, J. Immunol., 14:7~15, 1968
 - 23) Yamazaki M. : Anti-tumor effect of macrophage, Medical Immunnology, 12: 1, 1986
 - 24) Roitt I. : Essential immunology, 7th edition, Black Scientific publications, London, p. 4, 1991
 - 25) McConkey, D.J. et al : Cellular signaling in programmed cell death(apoptosis). Immunol. Today., p. 11, pp. 120~121, 1990

- 26) 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*, p. 337, pp. 181~184, 1989
- 27) 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.*, p. 181, pp. 1661~1672, 1995
- 28) Zhou, T., Edwards, C.K. and Mounts, J.D. : Prevention of age-related T cell apoptosis defect in CD2-fas-transgenic mice. *J. Exp. Med.*, p. 182, pp. 129~137, 1995
- 29) Higuchi MM, Higashi N, taki H, and Osawa T. : Cytolytic mechanisms of activated macrophages; Tumor necrosis factor and L-arginine-dependent mechanisms act synergistically as the major cytolytic mechanism of activated macrophages, *J. Immunol.*, 144 : 1425, 1990

ABSTRACT

The effect of *Astragali Radix* and *Armeniacae Semen* on the apoptosis of immunocytes and nitric oxide production from peritoneal macrophages

Hyun-Woo Jeong, Han-Ju Moon

College of Oriental Medicine, DongShin University, Naju 520-714, Korea

The purpose of this research was to investigate effects of *Astragali Radix*(AR) and *Armeniacae Semen*(AS) on T-lymphocytes and peritoneal macrophages in mice. The proliferation of thymocytes and splenocytes were tested using macroplate-reader. The apoptosis and sub-population of T-lymphocytes were tested using a flow cytometer. Nitric oxide production was tested using a Griess reagents.

The result were obtained as follow ;

1. AR increased the proliferation of thymocytes and splenocytes.
2. AS decreased the proliferation of thymocytes and splenocytes.
3. AR and AS decreased NO production from peritoneal macrophages.
4. AR and AS were accelerate T-lymphocytes apoptosis.
5. AR and AS increased T_c cells population, but decreased T_H cells population of T-lymphocyte.