

補中益氣湯, 人蔘 및 黃芪 藥鍼이 MTX로 誘發된 白鼠의 免疫機能低下에 미치는 影響

金正憲¹ · 朴희濬² · 李香淑² · 李惠貞^{2*}

The Effect of Herb-acupunctures of Bojoongiggi-tang (Buzhongyiqi-tang),
Ginseng Radix, and Astragali Radix on Immune Responses in Rats

Jung-Hun Kim¹ · Hi-Joon Park² · Hyang-Sook Lee² · Hye-Jung Lee^{2*}

1 Dept. of Meridianology, College of Oriental Medicine, Kyunghee University

2 Acupuncture and Meridianology, Dept. of Oriental Medical Science, Graduate School
of East-West Medical Science, Kyunghee University

ABSTRACT

Objectives :

To investigate the effects of herb-acupunctures of Qi tonification herbs or formula on the rat immune depression induced by an anticancer drug, methotrexate (MTX)

Methods :

Animals were divided into 5 groups; Normal control group was not given any treatment. Immune depression was induced by oral administration of 1mg/kg MTX b.i.d for 4 days in Control, Sample I, II, and III groups. We treated on CV4 (Guanyuan) with saline, Bojoongiggi-tang (Buzhongyiqi-tang), Ginseng Radix and Astragali Radix herb-acupunctures in Control, Sample I, II, and III groups, respectively. In both blood and spleen, the assessment of CD4⁺ T-cell count, CD8⁺ T-cell count, CD4/CD8 T-cell ratio was performed.

1 慶熙大學校 韓醫科大學 經穴學教室

2 慶熙大學校 東西醫學大學院 韓醫科學科 鍼灸經絡學教室

Results :

Here we show that 3 herb-acupuncture groups have an influence, to some extent, on CD4+ and CD8+ T-cell counts and CD4/CD8 T-cell ratio in both blood and spleen. Astragali Radix herb-acupuncture, in particular, was found to have significantly increased CD4+ T-cell count in blood and CD4/CD8 T-cell ratio in blood and spleen.

Conclusions :

The results of this study suggest that herb-acupunctures of Bojoongiggi-tang (Buzhongyiqi-tang), Ginseng Radix and Astragali Radix may have an influence over rat immune depression induced by MTX.

Key words : Herb-acupuncture, methotrexate, immune response, Bojoongiggi-tang (Buzhongyiqi-tang), Ginseng Radix, Astragali Radix

I. 緒 論

免疫에 대한 包括的이고 現代의인 概念은 微生物이나 蛋白質, 多糖類 같은 巨大分子를 包含하는 外部物質에 대한 生體의 反應으로 定義되고 있으나, 이 定義에는 그런 反應의 生理學的 또는 病理學的 結果를 包含하고 있지 않다¹⁾. 다시 말해 免疫은 人體가 外部로부터 侵入하는 細菌이나 바이러스 등의 微生物, 同種의 組織이나 體內에서 생긴 不必要한 産物 등과 特異하게 反應하여 抗體를 만들어 外部因子로부터 人體의 恒常性を 維持하는 現象을 말한다²⁾.

韓醫學에는 現代의 意味의 免疫概念과 一致하는 內容은 없으나 '感染病으로부터의 防禦'라는 最初의 意味에서 본다면 正氣와

邪氣를 통하여 免疫을 說明할 수 있을 것으로 思慮된다.

이에 대하여 <素問·刺法論>³⁾에 “余聞五疫之至 皆相染易 無問大小 病狀相似 不施救療 如何可得 不相移易者. 岐伯曰 不相染者 正氣存內 邪不可干 避其毒氣”라 하여 正氣가 안에 있으면 疫病의 毒氣를 避할 수 있음을 말하였다. 또 <素問·評熱病論>³⁾에서는 “邪之所湊 其氣必虛”, <靈樞·口問>⁴⁾에서는 “邪之所在 皆爲不足”이라 하여 正氣의 虛弱이 疾病의 發生에 根源이 되고 있음을 말하고 있다. <素問·通評虛實論>³⁾에는 “邪氣盛則實 精氣奪則虛”라 하여 正氣와 邪氣의 勢力均衡을 통하여 虛實이 分別됨을 말하였고, <素問·三部九候論>³⁾에서는 “調其氣之虛實 實則

寫之 虛則補之” 라 하여 虛實에 따른 補瀉의 治療原則을 말하였다. 韓醫學의 正氣概念에는 氣·血·陰·陽이 모두 包含되며, 實驗적으로도 補氣^{5,6,7,8,9,10,11,12}·補血^{6,13}·補陰⁷·補陽¹⁴ 등 扶正의 藥物이 免疫力의 增加에 미치는 影響과 관련된 報告가 있다. 한편 藥鍼을 使用한 免疫관련 論文을 보면 高等⁵은 人蔘을, 林等¹⁵은 靈芝를, 朴等^{8,9}은 黃芪를, 文等¹³은 當歸를 藥鍼液의 原料로 하여 免疫反應에 有效한 結果가 있었음을 報告하였다.

治療穴로 選擇한 關元 (CV4)은 丹田이라고도 불리는 任脈上의 經穴로 臍下 3寸處에 位置하며, 效能은 補氣回陽, 培腎固本, 分別清濁, 調血室精宮 등이며 三焦의 氣가 發生하는 곳이다. 韓醫學의 代表的 補氣의 處方과 藥物인 補中益氣湯, 人蔘 및 黃芪 藥鍼이 免疫機能에 미치는 影響을 觀察하기 위하여 抗癌劑이자 免疫抑制劑인 methotrexate (MTX)로 흰쥐의 免疫機能을 低下시키고 關元에 相應하는 부위에 藥鍼刺戟 후, CD4+ T-cell 比率, CD8+ T-cell 比率, CD4/CD8 T-cell 比 등을 測定하여 有意한 缺課를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 材料 및 方法

(1) 動物

動物은 體重 250±10g의 Sprague-Dawley系 흰쥐를 使用하였으며, 固形飼料 (構成成分: 조단백질 21.1 %, 조지방 3.5 %, 조섬

유 5.0 %, 조희분 8.0 %, 갈슘 0.6 %, 인 0.6 %)와 물을 充分히 供給하면서 實驗室環境에서 3週 以上 適應시킨 후 健康이 良好한 것을 選擇하여 使用하였다.

(2) 材料

1) 藥材

本 實驗에서는 京東시장 내 韓藥商街에서 供給하는 國產 藥材를 嚴選해서 使用하였으며, 藥鍼製造에 사용된 補中益氣湯, 人蔘 및 黃芪의 用量은 다음과 같다 (Table 1).

Table I. Herbs in Bojoongiggi-tang (Buzhongyiqi-tang), Ginseng Radix and Astragali Radix herb-acupunctures

藥鍼名	韓藥名	生藥名	用量 (g)
補中益氣湯 藥鍼	黃芪	<i>Astragali Radix</i>	56.2
	人蔘	<i>Ginseng Radix</i>	37.5
	白朮	<i>Atractylis Rhizoma</i>	37.5
	甘草	<i>Glycyrrizae Radix</i>	37.5
	當歸身	<i>Angelica gingantis Radix</i>	18.7
	陳皮	<i>Aurantii nobilis Pericarpium</i>	18.7
	升麻(酒洗)	<i>Cimicifugae Rhizoma</i>	11.2
	柴胡(酒洗)	<i>Bupleuri Radix</i>	11.2
	Total		228.5
人蔘 藥鍼	人蔘	<i>Ginseng Radix</i>	200
黃芪 藥鍼	黃芪	<i>Astragali Radix</i>	200

2) 藥鍼器

1.0 ml 藥鍼注入器 (注射鍼 26 gauge, 綠十字醫療供給社, 韓國)를 使用하였다.

3) 抗體 및 試藥

T 淋巴球 表面抗原에 대한 모노클로날 (monoclonal) 抗體는 FITC Anti-Rat CD4+ Monoclonal Antibody (Cedarlane, Ontario, Canada), PE Anti-Rat CD8+ Monoclonal Antibody (Cedarlane, Ontario, Canada) 를 使用하였다.

(3) 實驗方法

1) 實驗動物群 分離

實驗動物을 正常群, 對照群 (MTX 투여 군), 補中益氣湯 藥鍼群, 人蔘 藥鍼群, 黃芪 藥鍼群으로 區分하여 한 群에 6마리씩 配定하였다.

正常群 : 固形飼料와 물만을 充分히 供給 하였다.

對照群 : 正常群과 同一한 環境에서 MTX 를 投與하였다.

補中益氣湯 藥鍼群 : 對照群과 同一한 方法으로 MTX를 投與하며 腹部的 關元 (CV4) 相應部位에 補中益氣湯 藥鍼刺戟을 주었다.

人蔘 藥鍼群 : 對照群과 同一한 方法으로 MTX를 投與하며 腹部的 關元 (CV4) 相應部位에 人蔘 藥鍼刺戟을 주었다.

黃芪 藥鍼群 : 對照群과 同一한 方法으로 MTX를 投與하며 腹部的 關元 (CV4) 相應部位에 黃芪 藥鍼刺戟을 주었다.

2) 藥鍼液의 製造

藥鍼調製 세트의 모든 器具와 部品을 알코올 또는 蒸溜水로 씻어서 乾燥하고 準備된 實驗卓子에 設置하고, 處方된 藥材를 채반을 利用하여 흐르는 물에 씻어 물기를 빼놓은 뒤, 반응조에 藥材를 넣고 蒸溜水를 藥材부피와 同量으로 부어 불린다. 유리여과판에 각각 0.45 μ m, 0.2 μ m 濾過膜을 한장만 놓고 여과컵을 얹어 여과컵 집게로 잡아준다. 反應 電熱器에 電源을 넣고 끓기 시작하면 冷却器를 켜다. 藥材가 든 반응조의 물이 減少하기 시작하면 反應調節器의 눈금을 차츰 낮춰주고 藥材가 눈기 전까지 抽出을 한다. 冷却된 藥鍼液이 일차 여과컵에 다 고이고 반응조의 抽出을 마쳤으면 冷却器의 電源을 끈다. 0.2 μ m 여과컵의 콕크가 잠겨 있는지를 確認하고 나서 眞空펌프를 켜 뒤 0.45 μ m 여과 호스의 핀치 콕크를 서서히 조금만 열어 濾過한다. 一次濾過가 끝나면 0.45 μ m 濾過 호스의 핀치콕크를 잠그고 0.2 μ m 여과 호스의 핀치콕크를 서서히 열어 놓은 채 여과컵의 콕크를 완전히 垂直으로 열어 濾過를 한다. 최종 여과병에 모인 濾過液이 0.9 % 等張液이 되도록 약전소금을 넣고 2~3 時間 程度 4 $^{\circ}$ C 以下에 保管하여 無機鹽類를 沈降시킨 후 아래부분 0.5 cm 程度는 버리고 上부분만 20 ml 바이엘병에 담은 뒤 한 귀 고무마개와 알루미늄 캡으로 密封한다. 완전히 密封된 藥鍼液 병을 高壓滅菌器에 넣고 2 氣壓, 120 $^{\circ}$ C, 30~40 分 程度 高壓滅菌을 한 뒤

使用할 때 藥鍼 注入器로 使用할 만큼 고 무마개를 열지 않고 바늘을 뽑아서 뽑아 사용하였다.

3) MTX를 이용한 免疫 低下

MTX 投與群은 methotrexate (MTX ; $C_{20}H_{11}N_8O_5$, Sigma, U.S.A.) 粉末을 1 mg/kg으로 調整하여 生理食鹽水에 녹여 1 ml 씩 午前 10 時와 午後 5 時 하루 2 回 씩 4 日間 總 8 回 經口投與하여 免疫을 低下시켰다.

4) 藥鍼 刺戟

藥鍼 刺戟은 상기 준비한 藥針液을 午前 10 時와 午後 5 時, 하루 2 回 總 4 日間 0.3 ml 씩 關元穴에 注入하였다.

5) 採血

클로로포름으로 麻醉하고 心臟穿刺하여 血液을 EDTA (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid Dipotassium Salt)가 들어있는 병에 넣어 잘 섞어서 凝固를 防止한 뒤 使用하였다.

6) 脾臟細胞 分離

心臟採血후 無菌狀態에서 흰쥐의 脾臟을 摘出하여 2 ml의 PBS (Phosphate buffered saline; sodium chloride 8 g, potassium chloride 0.2 g, disodium hydrogen phosphate 1.15 g, potassium dihydrogen phosphate 0.2 g) 들어 있는 petri dish에

올려 놓고 작은 解剖가위로 잘게 자른 후 滅菌된 유리막대로 조심스럽게 문질러 각 組織 細胞를 浮遊시키고, 스테인철망 (mesh No. 100 ; 청계상공사, 韓國)에 濾過하여 組織片과 유리되지 않은 細胞덩어리를 除去하여 浮遊液을 만들었다. 이 浮遊液을 25 分동안 2000 rpm에서 遠心分離하여 가라앉힌 뒤 上層液을 버리고 다시 PBS를 加하여 脾臟細胞를 浮遊시켰다.

7) 淋巴球 分離

EDTA를 使用하여 凝固防止한 血液에 同量의 PBS를 섞은 것과 脾臟細胞 浮遊액에 Lymphoprep (1.077 ± 0.0001 g/ml, Nycomed Pharma As, Oslo, Norway)를 添加하여 25 分 동안 2000 rpm에서 遠心分離하여 上層을 버리고, 중간에 하얗게 부유해 있는 lymphocyte를 分離하였다.

分離된 lymphocyte를 PBS에 浮遊시켜서 220 g에서 10 分間 2 回 遠心洗滌한 후 RPMI 1640 medium에 浮遊시키고, 光學顯微鏡을 이용하여 trypan blue exclusion으로 細胞數를 헤아렸다.

8) 血液 및 脾臟 淋巴球의 CD4+, CD8+ T 細胞率 測定

RPMI 1640 medium에 浮遊시킨 각 淋巴球 細胞를 media A (pH 7.2 PBS + 5 % normal serum of host species + 2 M sodium azide)에 2×10^7 cells/ml의 농도로 細胞를 再浮遊시키고, 試驗管에 細胞浮遊液

50 μ l씩 넣어서 試驗管마다 1×10^6 개의 細胞가 存在하게 했다. 각 試驗管에 FITC Anti-Rat CD4+ Monoclonal Antibody (Cedarlane, Ontario, Canada)와 PE Anti-Rat CD8+ Monoclonal Antibody (Cedarlane, Ontario, Canada)를 각각 0.5 μ g씩 加하고 Vortex mixer로 잘 섞는다. 이 混合液을 빛이 遮斷되도록 알루미늄호일로 씌우고 4 $^{\circ}$ C에서 30 分間 培養한 뒤, 4 $^{\circ}$ C에서 PBS로 2 回 洗滌하고, 50 μ l의 ice cold media B (pH 7.2 PBS + 0.5 % Bovine serum albumin + 2 M sodium azide)에서 cell pellet을 再浮遊시켰다. 이를 FACS를 이용하여 淋巴球에 의한 CD4+, CD8+ T 細胞率을 測定하였다.

(4) 統計處理 및 方法

各 群의 統計處理는 SPSS (Statistical Package)를 利用하였으며 技術分析을 하고 먼저 ANOVA 方法에 의한 F 檢定을 하여 群間의 差異가 있는지를 確認하고 ($p < 0.05$) 差異가 보이는 경우 事後檢定으로 Duncan 方法을 使用하여 有意水準 95 % ($\alpha = 0.05$)에서 群間比較하였다.

III. 實驗成績

(1) 血液內 CD4+ T-cell 比率의 變化

血液內 CD4+ T-cell 比率의 變化를 보면 正常群은 43.85 ± 1.65 %, 對照群은 33.46 ± 2.09 %, 補中益氣湯 藥鍼群은 42.93 ± 1.20

%, 人蔘 藥鍼群은 38.33 ± 3.71 %, 黃芪 藥鍼群은 43.47 ± 3.27 % 이었으며 전체 實驗群間에 有意한 差異가 있는지를 檢證하기 위해 分散分析을 한 結果 F-value가 3.040 ($P < 0.05$)으로 有意성이 認定되었다.

Duncan 檢定法에 의한 多衆分散分析을 실시한 結果 對照群은 正常群에 비해 有意한 減少를 보였고 補中益氣湯 藥鍼群과 黃芪 藥鍼群은 對照群에 비해 有意한 增加를 보인 반면 人蔘 藥鍼群은 對照群에 비해 有意한 增加를 보이지 않았다. 正常群과 각 實驗群間에 有意한 差異는 없었다 (Table II).

(2) 血液內 CD8+ T-cell 比率의 變化

血液內 CD8+ T-cell 比率의 變化를 보면 正常群은 23.13 ± 1.14 %, 對照群은 38.31 ± 2.84 %, 補中益氣湯 藥鍼群은 32.19 ± 2.74 %, 人蔘 藥鍼群은 33.23 ± 4.04 %, 黃芪 藥鍼群은 27.50 ± 2.41 % 이었으며 전체 實驗群間에 有意한 差異가 있는지를 檢證하기 위해 分散分析을 한 結果 F-value가 4.286 ($P < 0.01$)로 有意성이 認定되었다. Duncan 檢定法에 의한 多衆分散分析을 실시한 結果 對照群은 正常群에 비해 有意한 增加를 보였고 黃芪 藥鍼群은 對照群에 비해 有意한 減少를 보인 반면 補中益氣湯 藥鍼群과 人蔘 藥鍼群은 有意한 差異를 나타내지 않았다. 각 實驗群間에 有意한 差異는 없었으며 黃芪 藥鍼群은 正常群에 가깝게 回復되는 樣相을 보였다 (Table III).

Table II. Effect of Bojoongiggi-tang (Buzhongyiqi-tang), Ginseng Radix Astragali Radix Herb-acupunctures on Blood CD4+ T-cell in Rat

Group	No. of animals	CD4+ T-cell (% in blood)	Duncan grouping
normal	6	43.85 ± 1.65 ^{a)}	B ^{b)}
control	6	33.46 ± 2.09	A
sample I	6	42.93 ± 1.20	B
sample II	6	38.33 ± 3.71	AB
sample III	6	43.47 ± 3.27	B
F-value		3.040*	

- a) Mean ± Standard error of 6 rats
 b) The same letters are not significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan test.

Normal : Untreated.

Control : MTX is administrated.

Sample I : MTX is administrated and treated with Bojoongiggi-tang

(Buzhongyiqi-tang) herb-acupuncture.

Sample II : MTX is administrated and treated with Ginseng Radix herb-acupuncture

Sample III : MTX is administrated and treated with Astragali Radix herb-acupuncture

* : Statistically significant value by the analysis of variance procedure
 (* : P<0.05)

Table III. Effect of Bojoongiggi-tang (Buzhongyiqi-tang), Ginseng Radix Astragali Radix Herb-acupunctures on Blood CD8+ T-cell in Rat

Group	No. of animals	CD8+ T-cell (% in blood)	Duncan grouping
normal	6	23.13 ± 1.14 ^{a)}	A ^{b)}
control	6	38.31 ± 2.84	C
sample I	6	32.19 ± 2.74	BC
sample II	6	33.23 ± 4.04	BC
sample III	6	27.50 ± 2.41	AB
F-value		4.286*	

- a) Mean ± Standard error of 6 rats
 b) The same letters are not significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan test.

Normal : Untreated.

Control : MTX is administrated.

Sample I : MTX is administrated and treated with Bojoongiggi-tang

(Buzhongyiqi-tang) herb-acupuncture

Sample II : MTX is administrated and treated with Ginseng Radix herb-acupuncture

Sample III : MTX is administrated and treated with Astragali Radix herb-acupuncture

* : Statistically significant value by the analysis of variance procedure
 (* : P<0.01)

(3) 血液內 CD4/CD8 T-cell 比의 變化

血液內 CD4/CD8 T-cell 比의 變化를 보면 正常群은 1.97 ± 0.088 , 對照群은 0.97 ± 0.001 , 補中益氣湯 藥鍼群은 1.38 ± 0.090 , 人蔘 藥鍼群은 1.30 ± 0.002 , 黃芪 藥鍼群은 1.62 ± 0.001 이었으며 전체 實驗群간에 有意한 差異가 있는지를 檢證하기 위해 分散分析을 한 結果 F-value가 7.005 ($P < 0.001$) 로 有意성이 認定되었다.

Duncan 檢定法에 의한 多衆分散分析을 실시한 結果 對照群은 正常群에 비해 有意하게 減少하였고 補中益氣湯 藥鍼群과 人蔘 藥鍼群은 對照群과 有意한 差異를 나타내지 않았지만 黃芪 藥鍼群은 對照群에 비해 有意한 增加를 보였고 正常群과의 有意한 差異는 없었다 (Table IV).

(4) 脾臟內 CD4+ T-cell 比率의 變化

脾臟內 CD4+ T-cell 比率의 變化를 보면 正常群은 42.40 ± 1.93 %, 對照群은 32.06 ± 2.40 %, 補中益氣湯 藥鍼群은 47.05 ± 3.03 %, 人蔘 藥鍼群은 43.08 ± 3.76 %, 黃芪 藥鍼群은 38.34 ± 1.91 % 이었으며 전체 實驗群간에 有意한 差異가 있는지를 檢證하기 위해 分散分析을 한 結果 F-value가 6.547 ($P < 0.001$)로 有意성이 認定되었다.

Duncan 檢定法에 의한 多衆分散分析을 실시한 結果 對照群은 正常群에 비해 有意한 減少를 나타내었으며 補中益氣湯 藥鍼群과 人蔘 藥鍼群은 對照群과 有意한 差異를 보였으나 黃芪 藥鍼群은 對照群과 有意

한 差異를 보이지 않았다 (Table V).

Table IV. Effect of Bojoongiggi-tang (Buzhongyiqi-tang), Ginseng Radix Astragali Radix Herb-acupunctures on Blood CD4/CD8 T-cell ratio in Rat

Group	No. of animals	CD4/CD8 T-cell ratio in blood	Duncan grouping
normal	6	1.97 ± 0.088^a	C ^{b)}
control	6	0.97 ± 0.001	A
sample I	6	1.38 ± 0.090	AB
sample II	6	1.30 ± 0.002	AB
sample III	6	1.62 ± 0.001	BC
F-value		7.005*	

a) Mean \pm Standard error of 6 rats

b) The same letters are not significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan test.

Normal : Untreated.

Control : MTX is administrated.

Sample I : MTX is administrated and treated with Bojoongiggi-tang

(Buzhongyiqi-tang) herb-acupuncture

Sample II : MTX is administrated and treated with Ginseng Radix herb-acupuncture

Sample III : MTX is administrated and treated with Astragali Radix herb-acupuncture

* : Statistically significant value by the analysis of variance procedure (* : $P < 0.001$)

Table V. Effect of Bojoongiggi-tang (Buzhongyiqi-tang), Ginseng Radix Astragali Radix Herb-acupunctures on Spleen CD4+ T-cell in Rat

Group	No. of animals	CD4+ T-cell (%) in spleen	Duncan grouping
normal	6	42.40 ± 1.93 ^{a)}	BC ^{b)}
control	6	32.06 ± 2.40	A
sample I	6	47.05 ± 3.03	C
sample II	6	43.08 ± 3.76	BC
sample III	6	38.34 ± 1.91	AB
F-value		6.547*	

a) Mean ± Standard error of 6 rats

b) The same letters are not significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan test.

Normal : Untreated.

Control : MTX is administrated.

Sample I : MTX is administrated and treated with Bojoongiggi-tang

(Buzhongyiqi-tang) herb-acupuncture

Sample II : MTX is administrated and treated with Ginseng Radix herb-acupuncture

Sample III : MTX is administrated and treated with Astragali Radix herb-acupuncture

* : Statistically significant value by the analysis of variance procedure

(* : P<0.001)

(5) 脾臟內 CD8+ T-cell 比率의 變化

脾臟內 CD8+ T-cell 比率의 變化를 보면 正常群은 20.06±1.16 %, 對照群은 24.20±1.55 %, 補中益氣湯 藥鍼群은 24.81±1.06 %, 人蔘 藥鍼群은 26.38±0.92 %, 黃芪 藥鍼群은 20.77±1.20 % 이었으며 전체 實驗群간에 有意한 差異가 있는지를 檢證하기 위해 分散分析을 한 결과 F-value가 5.129 (P<0.01)로 有意성이 認定되었다.

Duncan 檢定法에 의한 多衆分散分析을 실시한 結果 對照群은 正常群에 비해 有意하게 增加하였으나 對照群과 각 實驗群간에 有意한 差異는 없는 것으로 나타났다. 實驗群간의 比較에 있어서는 黃芪 藥鍼群이 補中益氣湯 藥鍼群과 人蔘 藥鍼群에 비해 有意한 減少를 보였다. 正常群과 黃芪 藥鍼群간에는 有意한 差異가 없으나 補中益氣湯 藥鍼群이나 人蔘 藥鍼群과는 有意한 差異를 나타내었다 (Table VI).

(6) 脾臟內 CD4/CD8 T-cell 比의 變化

脾臟內 CD4/CD8 T-cell 比의 變化를 보면 正常群은 2.03±0.061, 對照群은 1.37±0.002, 補中益氣湯 藥鍼群은 1.92±0.070, 人蔘 藥鍼群은 1.58±0.065, 黃芪 藥鍼群은 1.83±0.049 이었으며 전체 實驗群간에 有意한 차이가 있는지를 檢證하기 위해 分散分析을 한 결과 F-value가 9.232 (P<0.001)로 有意성이 認定되었다.

Duncan 檢定法에 의한 多衆分散分析을 실시한 結果 對照群은 正常群에 비해 有意하게 減少하였고 人蔘 藥鍼群은 對照群에

비해 有意하게 增加하지 않았으나 補中益氣湯 藥鍼群과 黃芪 藥鍼群은 有意하게 增加한 것으로 나타났다. 正常群과 補中益氣湯 藥鍼群 그리고 黃芪 藥鍼群 사이에 有意한 差異는 없었다 (Table VII).

Table VI. Effect of Bojoongiggi-tang (Buzhongyiqi-tang), Ginseng Radix Astragali Radix Herb-acupunctures on Spleen CD8+ T-cell in Rat

Group	No. of animals	CD8+ T-cell (%) in spleen	Duncan grouping
normal	6	20.06 ± 1.16 ^{a)}	A ^{b)}
control	6	24.20 ± 1.55	BC
sample I	6	24.81 ± 1.06	C
sample II	6	26.38 ± 0.92	C
sample III	6	20.77 ± 1.20	AB
F-value		5.129*	

- a) Mean ± Standard error of 6 rats
- b) The same letters are not significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan test.

Normal : Untreated.

Control : MTX is administrated.

Sample I : MTX is administrated and treated with Bojoongiggi-tang

(Buzhongyiqi-tang) herb-acupuncture

Sample II : MTX is administrated and treated with Ginseng Radix herb-acupuncture

Sample III : MTX is administrated and treated with Astragali Radix herb-acupuncture

* : Statistically significant value by the analysis of variance procedure (* : P<0.01)

Table VII. Effect of Bojoongiggi-tang (Buzhongyiqi-tang), Ginseng Radix Astragali Radix Herb-acupunctures on Spleen CD4/CD8 T-cell ratio in Rat

Group	No. of animals	CD4/CD8 T cell ratio in spleen	Duncan grouping
normal	6	2.03 ± 0.061 ^{a)}	C ^{b)}
control	6	1.37 ± 0.002	A
sample I	6	1.92 ± 0.070	C
sample II	6	1.58 ± 0.065	AB
sample III	6	1.83 ± 0.049	BC
F-value		9.232*	

- a) Mean ± Standard error of 6 rats
- b) The same letters are not significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan test.

Normal : Untreated.

Control : MTX is administrated.

Sample I : MTX is administrated and treated with Bojoongiggi-tang

(Buzhongyiqi-tang) herb-acupuncture

Sample II : MTX is administrated and treated with Ginseng Radix herb-acupuncture

Sample III : MTX is administrated and treated with Astragali Radix herb-acupuncture

* : Statistically significant value by the analysis of variance procedure

(* : P<0.001)

IV. 考 察

正氣는 疾病에 대한 人體의 抵抗力을 말하며 邪氣는 疾病을 일으키는 모든 發病原因을 가리킨다. 精·神·津液·氣血 등은 모두 人間이 生長하고 發育하며 健壯하게 하는 物質 및 原動力으로 모두 正氣의 範疇에 속한다. 이밖에 外感六淫·飲食所傷·痰飲·瘀血 등의 要素는 모두 邪氣의 範疇에 속한다¹⁶⁾.

<素問·刺法論>³⁾에 “余聞五疫之至 皆相染易 無問大小 病狀相似 不施救療 如何可得 不相移易者. 岐伯曰 不相染者 正氣存內 邪不可干 避其毒氣”, <素問·評熱病論>³⁾에 “邪之所湊 其氣必虛”, <靈樞·口問>⁴⁾에 “邪之所在 皆爲不足”, <素問·上古天真論>³⁾에 “虛邪賊風 避之有時 恬淡虛無 眞氣從之 精神內守 病安從來”, <靈樞·百病始生>⁴⁾에 “風雨寒熱 不得虛邪 不能獨傷人” 등은 모두 正氣와 邪氣의 關係를 통하여 疾病의 發生을 說明하고 있다.

免疫이란 生體가 自己와 非自己를 識別하는 機能이며, 外部로부터 侵入하는 微生物, 同種의 組織이나 體內에 생긴 不必要한 產物 등을 非自己인 抗原으로 認識하고 特異하게 反應하여 抗體를 生産하여 이를 排除하므로써 그 個體의 恒常性を 維持하는 現象이다²⁾.

免疫에는 體液性 免疫과 細胞性 免疫이 있다. 體液性 免疫은 어떤 抗原을 特異적으로 認知하고 이를 除去하는 血液成分에 의

해 중재되는데 이러한 血液 內에 있는 分子를 抗體라하고, 抗體는 血球를 除外한 血液成分에 의해 免疫되지 않은 個體로 傳達될 수 있다. 細胞媒介免疫은 細胞性 免疫이라 부른다. 이는 T 淋巴球에 의해 중재되며 免疫된 個體에서 免疫되지 않은 個體로 T 淋巴球를 移植함으로써 傳達될 수 있다.

體液性 免疫과 細胞性 免疫은 모두 特定 淋巴球에 의해 媒介되는데 體液性 免疫은 B 淋巴球, 細胞性 免疫은 T 淋巴球가 擔當하는데, 특히 B 淋巴球는 外來抗原에 反應하여 抗體生成細胞로 分化한다. 體液性 免疫은 細胞의 微生物이나 微生物이 分泌하는 毒素에 대한 重要한 防禦機作이며, 이 경우 抗體가 細菌과 結合하여 그들의 破壞를 돕는다.

반면 바이러스나 어떤 細菌과 같은 細胞內 微生物은 食細胞나 다른 宿主細胞 내에서 增殖하므로 循環抗體가 接近하기 어렵다. 이러한 感染에 대한 防禦는 細胞性 免疫에 의해 이루어지는데, 이 경우 食細胞 내에 生存하는 微生物을 破壞하거나 感染된 細胞를 溶解시킨다¹⁾.

補中益氣湯은 黃芪, 人參, 白朮, 甘草, 當歸(身), 陳皮, 升麻, 柴胡 등으로 構成된 處方으로 金元四大家의 한사람인 李東垣에 의해 創方되었다. 그 主治는 勞役이 甚하거나 혹은 飲食이 節制를 잃어 身熱, 煩, 自汗, 倦怠 등의 症狀이 있는 경우이다. 臨床에서는 慢性 炎症性 疾患, 眼瞼이나 胃, 子

宮 등의 下垂性 疾患, 機能性 子宮出血, 重症筋無力症 등의 慢性疾患과 각종 虛弱性 疾患에 應用되고 있다^{17,18)}.

補中益氣湯의 免疫에 관한 實驗的 研究로는 朴¹⁹⁾이 cyclosporin A로 免疫抑制된 白鼠의 血清 AST, ALT, bile acid, BUN, creatinine 含量의 增加를 減少시키며 SOD의 活性을 增加시킨다고 하였고, 閔²⁰⁾이 赤外線 照射로 抑制된 NK細胞의 活性을 回復시킨다고 하였으며, 金 등²¹⁾은 S-180 腹水癌細胞를 移植한 白鼠의 壽命을 延長시키며, cyclophosphamide의 多量投與로 인한 GOT, GPT, BUN, creatinine 含量의 增加를 抑制시키고, 血清抗體가, 淋巴球 增殖反應, IL-2의 生成能 및 自然殺害細胞의 活性度를 增加시키며, 香砂六君子湯과의 併用投與가 淋巴球數 및 胸腺, 淋巴節, 脾臟 등의 T-cell 分布를 增加시킨다고 報告한 바 있으며, 金²²⁾은 補中益氣湯이 淋巴球數와 CD4+ T-cell의 比率을 增加시킨다고 報告한 바 있다.

人蔘은 두릅나무과 人蔘의 根으로 性味는 微溫 甘微苦이다. 그 效能은 大補元氣, 固脫生津, 安神 등이다. 醫學入門²³⁾에서는 “甘溫補五臟止渴調中利濕痰明目開心通血脈安魂定魄解虛煩蔘蔘也久服補元氣”라 하였고, 東醫寶鑑에서는 “性微溫 味甘 無毒主五藏氣不足 安精神定魂魄 明目 開心 益智 療虛損 止霍亂 嘔噦 治肺痿吐膿消痰”라 하였으며, 方藥合編²⁴⁾에서는 “人蔘味甘 補元氣 止渴生津調營衛”이라 하였고, 本草

求真²⁵⁾에서는 “元氣가 平素에 虛弱하여 邪匿不出하는 경우 마땅히 人蔘을 使用하여 相佐하여야 한다. 하였다. 예를 들면 “蔘蘇飲, 敗毒散, 小柴胡湯, 白虎加入蔘湯, 石膏竹葉湯, 黃龍湯은 모두 人蔘을 使用하여 邪가 外로 出하는 것을 도왔다”, “元氣가 壯한 이는 外邪가 藥勢를 타고 出하지만 素弱之人은 藥이 비록 外行하여도 氣는 中에서부터 餒하므로 輕者는 半出不出하고 重者는 오히려 元氣를 따라 縮入하니 發熱不休한다. 따라서 體虛한 이는 반드시 人蔘三五七分을 表藥中에 入하여 元氣를 少助하므로써 驅邪之主가 되도록 하여 邪氣가 得藥에 一湧而出하도록 한다. 이는 절대로 衰弱을 補養하고자 함이 아니다.” 등이다.

人蔘에 대한 實驗的 研究로는 高等^{5,6,26,27,28)}이 人蔘의 免疫增強效果에 대해 報告한 바 있으며 人蔘이 包含된 處方에 대한 研究¹¹⁾도 이루어져 왔다.

黃芪는 콩과 黃芪의 地下莖으로 性味는 溫 甘하다. 效能은 益衛固表, 利水消腫, 托毒生肌, 補中益氣한다. 方藥合編²⁴⁾에서는 “黃芪甘溫收汗表 托瘡生肌虛莫少”이라 하였고 東醫寶鑑에서는 “性微溫味甘無毒主虛損羸瘦益氣長肉止寒熱療腎囊耳聾治癰疽久敗瘡排膿止痛又治小兒百病婦人崩漏帶下諸疾”라 하였고 醫學入門²³⁾에서는 “甘溫性無毒, 補益三焦呼羊肉, 內托癰疽外斂汗”이라 하였다. 本草求真²⁵⁾에 “黃芪(專入肺 兼入脾)는 味甘性溫質輕皮黃肉白하다. 故로 能히 肺로 入하여 補氣하고 表로 入

하여 實衛한다. 補氣하는데 諸藥 中에 最上이다. 故로 耆老 이름하였다” 고 하였다.

黃芪에 대한 實驗的 研究로는 朴 等^{8,9)}이 黃芪의 免疫增強效果에 대해 보고한 바 있으며 黃芪가 包含된 處方에 대한 研究²⁹⁾도 이루어져 왔다.

본 실험의 결과에서 血液內 CD4+ T-cell 比率의 變化를 보면 補中益氣湯 藥鍼群과 黃芪 藥鍼群은 對照群에 비해 有意한 增加를 보인 반면 人蔘 藥鍼群은 對照群에 비해 有意한 增加를 보이지 않았다 (Table II).

脾臟內 CD4+ T-cell 比率의 變化를 보면 補中益氣湯 藥鍼群과 人蔘 藥鍼群은 對照群과 有意한 差異를 보였으나 黃芪 藥鍼群은 對照群과 有意한 差異를 보이지 않았다 (Table V).

血液內 CD8+ T-cell 比率의 變化를 보면 黃芪 藥鍼群은 對照群에 비해 有意한 減少를 보인 반면 補中益氣湯 藥鍼群과 人蔘 藥鍼群은 有意한 差異를 나타내지 않았다. 黃芪 藥鍼群만이 正常群 水準으로 回復되었다 (Table III).

脾臟內 CD8+ T-cell 比率의 變化를 보면 對照群과 각 實驗群간에 有意한 差異는 없으며 實驗群간의 比較에 있어서는 黃芪 藥鍼群이 補中益氣湯 藥鍼群과 人蔘 藥鍼群에 비해 有意한 減少를 보인다 (Table VI).

血液內 CD4/CD8 T-cell 比의 變化를 보면 補中益氣湯 藥鍼群과 人蔘 藥鍼群은 對照群과 有意한 차이를 나타내지 않았지만

黃芪 藥鍼群은 對照群에 비해 有意한 增加를 보이며 正常群 水準으로 回復되었다 (Table IV).

脾臟內 CD4/CD8 T-cell 比의 變化를 보면 人蔘 藥鍼群은 對照群에 비해 有意하게 增加하지 않았으나 補中益氣湯 藥鍼群과 黃芪 藥鍼群은 有意하게 增加한 것으로 나타났다 (Table VII).

T 淋巴球은 骨髓에서 생겨 胸腺으로 이동한 후 成熟한다. 胸腺細胞는 세 段階의 중요한 發達過程을 거치게 되는데, 아주 初期의 胸腺細胞는 CD4도 CD8도 發顯하지 않아 이들을 CD4-CD8- 또는 더블 네가티브 (double negative)로 부른다.

다음 段階에서 이들은 CD4+CD8+ 혹은 더블 포지티브 (double positive)되며 마지막 段階에서 胸腺細胞는 CD4+CD8- 혹은 CD4-CD8+인 싱글 포지티브 (single positive)의 細胞로 發達해간다. T 淋巴球은 機能的으로 細分되는데, 그 중 補助 T 淋巴球과 細胞溶解性 (或은 細胞障害性) T 淋巴球 외에 免疫反應을 抑制하는 것으로 알려진 抑制 T 淋巴球이 있다. 이 T 淋巴球의 亞集團을 分析하거나 確認하는데 있어 가장 重要한 進歩는 機能的으로 分化된 細胞에 의해 각기 다른 細胞膜 蛋白質이 發現된다는 것을 밝혀낸 것이다. 이 蛋白質들이 각기 다른 淋巴球 集團을 區分짓게 해주는 表現形 標指 (phenotypic marker)로서 이용되는데, 대부분의 補助 T 淋巴球은 CD4라는 表面蛋白質을, 또 대부분의 細

胞溶解性 T 淋巴球는 다른 標指인 CD8이라는 表面蛋白質을 發現한다. 그러므로 그러한 標指에 대한 抗體를 이용하여 多様な 淋巴球 집단을 分離하여 確認할 수 있게 되었다. CD란 分化群 (cluster of differentiation)이란 말의 英文略字로 淋巴球의 分化段階나 細胞의 由來를 알아보기 위해 이용했던 單一 클론 抗體 (monoclonal antibody)의 群 (cluster)에 의해 認識된 分子를 意味하며 이로써 淋巴球들간의 區別이 可能해졌다. 다음 表는 T 淋巴球의 種類와 機能, 表現形 標指와 淋巴球 全體의 百分率을 정리한 表이다. (Table VIII).

CD4와 CD8은 T 淋巴球 表面 糖蛋白質로 特徵적인 樣相으로 MHC에 制限적인 成熟 T 淋巴球의 表面에서 相互排他的으로 發見되는 MHC 分子의 非多形性 部位와 結合한다. CD4는 Class II MHC 分子와 직접 結合하여 T 淋巴球에서 발현하는데 그

TCR은 펩타이드와 Class II MHC 分子의 複合體를 認識하게 된다. 대부분의 CD4+ Class II MHC 제한 T 淋巴球는 사이토카인 (cytokine)을 生産하는 補助細胞의 機能的 表現形을 가지고 있다. CD8은 Class I MHC 分子와 結合하여 T 淋巴球에서 發顯하는데 그 TCR은 펩타이드와 Class II MHC 分子의 複合體를 認識하게 된다. 대부분의 CD8+ Class I MHC 제한 T 淋巴球는 CTL 또는 그들의 前驅細胞이다. CD4와 CD8 모두 附着 및 信號傳達의 聯合機能을 修行함으로써 抗原에 대한 T 淋巴球의 敏感性이 크게 向上된다. 이들은 TCR과 密接하게 聯關되어 있고 抗原認識時에 標的細胞 혹은 APC위의 MHC 分子와 結合하기 때문에 公助收容體라고 부른다. 末梢 αβ-陽性 T 淋巴球의 약 65%가 CD4를 35%가 CD8을 發顯한다. CD4와 CD8의 機能的 役割은 이 分子들에 대한 特異적 抗體가 生體內 및 生體外에서 T 淋巴球

Table VIII. Classification of T-cells and their Functions, Phenotypic Markers and Distributive Percentages in the Whole Lymphocytes

區分 class	機能 function	表現形標指 phenotypic marker	淋巴球 全體의 %		
			血液	淋巴節	脾臟
補助	B 淋巴球의 成長과 分化刺戟(體液性免疫) 사이토카인 分泌로 大食細胞 活性化(細胞性 免疫)	CD3+, CD4+ CD8-, CD2+	50-60	50-60	50-60
細胞 溶解性	바이러스 感染細胞 腫瘍細胞 및 親系組織 移植細胞 死滅(細胞性 免疫) 사이토카인 分泌로 大食細胞 活性化(細胞性 免疫)	CD3+, CD4- CD8+, CD2+	20-25	15-20	10-15
抑制	免疫反應 抑制	?CD3+, 대개 CD4-, CD8+			

의 MHC 制限 抗原刺戟을 抑制하는 能力을 通한다. 특히 CD4에 대한 抗體는 Class II MHC 制限 補助 T 淋巴球의 活性을 抑制하고, CD8에 대한 抗體는 Class I MHC 제한 CTL이 標的細胞를 殺菌하는 作用을 抑制한다. CD4와 CD8은 T 淋巴球 活性化에 있어 아래와 같은 두 가지의 重要한 機能을 한다.

첫째, CD4와 CD8은 MHC 제한 T 淋巴球가 MHC分子에 대한 特異的 親和度에 의해 APCs 혹은 標的細胞와의 附着을 增加시킨다.

둘째, CD4와 CD8은 T 淋巴球가 APC상 의 펩타이드-MHC를 認識할 때에 發生하는 初期 信號傳達反應에 參與한다.

이처럼 CD4와 CD8 補助 收容體의 附着 및 信號傳達機能의 聯合은 成熟 T 淋巴球의 抗原刺戟 效率를 크게 向上시킨다. 이러한 役割을 하는 淋巴球 表面의 標指 蛋白質에 대한 抗體를 使用하여 免疫力를 定量한다. 末梢 CD4+ T-cell 比率은 後天性 免疫缺乏性疾患의 進展을 評價하는데 가장 普遍的으로 使用하는 檢査方法이며^{30,31,32,33,34,35)} 一般的인 免疫力의 指標로도 廣範圍하게 應用되고 있다^{36,37,38)}.

抑制 T 淋巴球에 대해서는 아직 論亂의 餘地가 많다. 그러나 많은 實驗的 方法들에 의하면 免疫反應을 억제하는 細胞는 CD8+ 이며, CD8+ 細胞의 減少가 末梢血液에서 抗原에 대한 T 淋巴球의 反應性을 增加시킨다는 報告가 있다¹⁾. 이 細胞는 지나친 免

疫反應을 抑制하기 때문에 '自己'에 대한 無反應性을 維持하는데 重要한 意義를 가지고 있다. 免疫系는 '自己'에 대한 反應을 철저히 抑制하고 있지는 않다. '自己'와 반응하는 T 細胞와 自家抗體를 만드는 B 細胞도 少數이기는 하지만 存在하는 것으로 알려져 있다. 그 '自己' 反應性이 發動하는 것을 CD8+ 抑制 T 細胞가 現場에서 抑制하고 있다고 思料된다³⁹⁾. 實驗에서 CD8+ T-cell 比率의 증가는 免疫抑制劑의 使用으로 인한 上記 均衡의 破壞로 抑制 T-cell의 比率이 높아졌기 때문으로 思慮된다.

以上の 實驗結果를 보면 實驗群과 對照群이 有意한 差異를 보인 것이 총 實驗群 33例 중 19例로 나타났다.

각 實驗群別로 보면 黃芪 藥鍼群의 結果가 正常群에 가장 가까운 境遇가 총 11例 중 7例, 對照群에 가장 가까운 境遇가 2例, 對照群에 有意한 차이를 보인 境遇가 총 8例, 補中益氣湯 藥鍼群이 正常群에 가장 가까운 境遇가 4例, 對照群에 가장 가까운 境遇가 1例, 對照群에 有意한 差異를 보인 境遇가 총 6例, 人蔘 藥鍼群이 正常群에 가장 가까운 境遇는 없었으며 對照群에 가장 가까운 境遇가 11例 중 8例, 對照群에 有意한 差異를 보인 境遇가 총 4例로 全體的인 效果에 있어 黃芪, 補中益氣湯, 人蔘 順序의 免疫關聯指數 上升效果를 나타내었다.

이 實驗의 缺課만으로 黃芪가 人蔘보다 免疫力를 增強시키는 效果가 더 크다고 結

論내릴 수는 없다. 단 蒸溜抽出式의 黃芪 藥鍼液이 人蔘 藥鍼液에 비해 보다 효과가 좋다는 判斷은 내릴 수 있을 것으로 思慮된다. 이번 實驗에 사용된 藥針液은 煎湯濾過方式이 아닌 蒸溜抽出方式으로 만들어진 것이다.

煎湯液 自體를 걸러서 使用하는 것이 아니라 蒸溜液을 冷却시켜 使用하는 것으로 蒸溜抽出方式은 煎湯濾過方式에 비해 氣部分의 抽出은 相對적으로 容易되나 “味” 部分에 대한 藥效의 反應이 未洽하다고 推測된다. 이에 대한 한 根據로 本草求真²⁵⁾에 나온 人蔘과 黃芪의 比較를 注目한다. “人蔘은 氣味가 甘平하고 陽에 陰을 兼하고 있지만 黃芪는 性이 純陽이고 陰氣는 絶少하다”, “黃芪의 性品이 純陽이고 陰氣가 絶少하여 火盛血燥에 마땅하지 않은 것과 다르다”. 이는 黃芪의 純陽한 氣가 陰液을 겸하고 있는 人蔘에 비해 蒸溜抽出式 藥鍼液에 더 많은 部分이 反映될 수도 있음을 말하는 것으로 思慮된다.

V. 結 論

MTX로 低下된 免疫機能에 補中益氣湯·人蔘·黃芪 藥鍼이 미치는 影響을 觀察하기 위하여 MTX로 免疫을 低下시킨 흰쥐에 각각의 藥鍼을 1日 2回 4일간 關元에 注入한 후 脾臟과 血液의 CD4+, CD8+ T-cell 比率과 CD4/CD8 比를 測定하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 血液內 CD4+ T-cell 比率은 對照群에 비해 補中益氣湯 藥鍼群과 黃芪 藥鍼群에서 有意한 增加를 보였다.

2. 血液內 CD8+ T-cell 比率의 變化는 對照群에 비해 黃芪 藥鍼群만이 有意한 減少를 보였다.

3. 血液內 CD4/CD8 T-cell 比는 對照群에 비해 黃芪 藥鍼群만이 有意한 增加를 보였다.

4. 脾臟內 CD4+ T-cell 比率은 對照群에 비해 補中益氣湯 藥鍼群과 人蔘 藥鍼群에서 有意한 增加를 보였다.

5. 脾臟內 CD8+ T-cell 比率은 對照群에 비해 세 實驗群 모두 有意한 差異를 보이지 않았으나, 補中益氣湯 藥鍼群과 人蔘 藥鍼群은 增加한 반면 黃芪 藥鍼群은 正常群에 가깝게 有意한 減少를 보였다.

6. 脾臟內 CD4/CD8 T-cell 比는 對照群에 비해 補中益氣湯 藥鍼群과 黃芪 藥鍼群에서 有意한 增加를 보였다.

본 實驗 結果 抗癌劑이자 免疫抑制劑인 methotrexate로 유발된 白鼠의 免疫機能低下에 補中益氣湯, 人蔘 및 黃芪 藥鍼이 모두 免疫力을 回復·增強시키는데 一定한 效果가 있음이 認定되었다.

VI. 參考文獻

1. 金光赫 外2人. 細胞分子免疫學. 서울: 正門閣. 1998:30.
2. 李淵台 譯. 最新 免疫學. 서울:集文堂. 1993:33.
3. 洪元植 編著. 精校黃帝內經素問. 서울: 東洋醫學研究院出版部. 1985.
4. 洪元植 編著. 精校黃帝內經靈樞. 서울: 東洋醫學研究院出版部. 1985.
5. 高敬錫 外2人. 人蔘水鍼이 methotrexate를 投與한 생쥐의 免疫反應에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集. 1988;11:37~54.
6. 金聖洙 外2人. 人蔘 및 熟地黃이 methotrexate로 誘發된 생쥐의 免疫反應 低下에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集. 1986;9:355~66.
7. 羅瑛杰, 金光湖. 白朮과 枸杞子가 생쥐의 細胞性 및 體液性 免疫反應에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集. 1987; 10 : 579~88.
8. 朴鎮雄 外2人. 濃度差에 따른 黃耆藥鍼이 methotrexate를 投與한 생쥐의 免疫反應에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌. 1994;11(1):67~81.
9. 裴元永, 高炯均, 金昌煥. 黃耆藥鍼이 methotrexate를 投與한 생쥐의 免疫反應에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌. 1994;11(1):49~66.
10. 吳勇性 外2人. 水蔘, 白蔘 및 紅蔘이 細胞性免疫反應 및 體液性免疫反應에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集. 1987 ; 10 : 219~30.
11. 李南九 外2人. 四君子湯이 생쥐의 免疫反應 및 NK細胞의 細胞毒性에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌. 1989;10(2):115~22.
12. 하대유. 人蔘에 대한 細胞學 및 免疫學的 研究 (제III보), 大韓免疫學會誌. 1979;1(1):45~52.
13. 문혜선 外6人. 當歸抽出物이 免疫界에 미치는 影響, 大韓免疫學會誌. 1990 ; 12(1) : 113~18.
14. 崔平洛, 金光浩. 鹿茸이 methotrexate로 誘發된 免疫反應 低下에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集. 1987;10:589~604.
15. 林사비나, 李惠貞. 靈芝水鍼이 寒冷刺戟으로 低下된 생쥐의 免疫反應에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌. 1992; 13(1):71~84.
16. 文濬典. 東醫病理學. 서울:一中社. 1999 : 188~91.
17. 金永勳. 淸崗醫鑑. 서울:成輔社. 1984 : 174~76.
18. 尹吉榮. 東醫臨床方劑學. 서울:明寶出版社. 1985:307.
19. 朴宰賢. 補中益氣湯이 cyclosporin A를 投與한 흰쥐의 肝 및 腎損傷에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌. 1994;15(1):451~66.
20. 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, 方劑學會誌. 1991 ; 2(1) : 107~29.
21. 韓晟圭 外2人. 補中益氣湯, 手拈散 및 補中益氣湯合手拈散의 抗癌과 免疫調節作用에 관한 實驗的 研究, 慶熙韓醫大 論文集. 1995.
22. 金美志. 補中益氣湯이 lymphocyte와 CD4+ T-cell에 미치는 影響, 東國大學 校大學院. 1998.
23. 李挺. 醫學入門. 서울:大星文化社. 1983.
24. 黃度淵. 方藥合編. 서울:榮林社. 1991 : 126~32, 145~9.
25. 黃宮綉. 本草求真. 北京:人民衛生出版社. 1985:89~92, 97~9.
26. 金大洙. 三種의 製法에 따른 人蔘水鍼이 methotrexate를 投與한 생쥐의 免疫反應에 미치는 影響, 慶熙醫學. 1989 ; 5(1) : 97~105.
27. 金泰潤, 姜成吉. 人蔘水鍼前處置가 發癌豫防에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌. 1988 ; 9(2) : 33-44.
28. 黃敬愛 外2人. 人蔘 및 鹿茸水鍼의 時間經過에 따른 免疫效果研究, 慶熙醫學. 1988;4(2):150~7.
29. 黃奎東 外3人. 十全大補湯, 瓦松 및 十全大補湯加瓦松의 抗癌效果와 免疫反應에 관한 研究, 大韓韓方腫瘍學會誌. 1996;2(1):1~24.
30. Aries S.P. et al. Fas (CD95) expression on CD4+ T-cells from HIV-infected patients increases with disease progression. J Mol Med. 1995 ; 73(12) : 591~3.
31. Blanshard C, Gazzard B.G. Natural history and prognosis of diarrhea of unknown cause in patients with AIDS. Gut. 1995;36:283~6.
32. Colebunders R. et al. Persistent diarrhoea in Zairian AIDS patients; an endoscopic and histological study. Gut. 1988;29:1687~91.
33. De Jong R. et al. Maturation and differentiation-dependent responsiveness of human CD4+ T-helper subsets. J Immunol. 1992;149(8):2795~802.
34. Everaus H. Hormons and immune responsiveness in chronic lymphocytic leukemia. Leuk Lymphoma. 1992 ; 8(6) : 483~9.
35. Henry Masur et al. CD4+ T-cell Counts as predictors of opportunistic pneumonias in human immunodeficiency virus infection. Annals of Internal Medicine. 1989 ; 111 : 223~31.
36. Chiappelli F. et al. Pituitary-Adrenal Immune system in normal subjects and in patients with anorexia nervosa : The number of circulating helper T lymphocytes (CD4+) expressing the

homing receptor Leu8 is regulated in part by pituitary-adrenal products. *Psychoendocrinology*. 1991;16(5):423~32.

37. Hofmann B. et al. Buspirone, a serotonin receptor agonist, increases CD4+ T-cell counts and modulates the immune system in HIV-seropositive subjects. *AIDS*. 1996 ; 10(12) : 1339~47.
38. Kalmar J.R. et al. Superior leucocyte separation with a discontinuous one-step Ficoll-Hypaque gradient for the isolation of human neutrophils. *J Immunol Meth*. 1988;110:275~81.
39. 타다 토미오. 免疫의 意味論. 서울:한울. 1998:117~21.