

어성초(魚腥草)의 면역활성에 미치는 영향

가천대학교 한의과대학 한방부인과교실

김정현, 김윤상, 임은미

ABSTRACT

Immune Enhancing Effect of *Houttuyniae Herba* on Mouse Macrophage

Jeong-Hyun Kim, Yoon-Sang Kim, Eun-Mee Lim
Dept. of Gynecology, College of Oriental Medicine, Ga-Chon University

Objectives: The aim of this study is to investigate immune enhancing effect of *Houttuyniae Herba* water extract(HW) on RAW 264.7 cell of mouse macrophages.

Methods: Effects of HW on productions of nitric oxide(NO) and hydrogen peroxide(H₂O₂) in RAW 264.7 mouse macrophages were measured. Effect of HW on production of cytokines such as interleukin(IL)-1 β , IL-6, and tumor necrosis factor(TNF)- α in RAW 264.7 cells was accessed by a multiplex bead array assay based on xMAP technology. All of results were represented P<0.05 compared to the normal.

Results:

1. After 24 hr incubation, HW increased significantly NO production in RAW 264.7 cells at the concentrations of 25, 50, 100 and 200 μ g/mL.
2. After 24 hr incubation, HW increased significantly hydrogen peroxide production in RAW 264.7 cells at the concentrations of 25, 50, 100 and 200 μ g/mL.
3. After 24 hr incubation, HW increased significantly IL-1 β production in RAW 264.7 cells at the concentrations of 100 and 200 μ g/mL.
4. After 24 hr incubation, HW increased significantly IL-6 production in RAW 264.7 cells at the concentrations of 100 and 200 μ g/mL.
5. After 24 hr incubation, HW increased significantly TNF- α production in RAW 264.7 cells at the concentrations of 50, 100, and 200 μ g/mL.

Conclusions: These results suggest that HW has immune enhancing activity related with its increasement of NO, hydrogen peroxide, IL-1 β , IL-6, and TNF- α in macrophages.

Key Words: *Houttuyniae Herba*, macrophage, cytokine, hydrogen peroxide, NO

“이 연구는 2012년도 가천대학교 지원에 의한 결과임(연구 번호 : GCU-2012-R068)”

I. 서 론

여성 생식기에서 염증반응은 바이러스, 박테리아 및 곰팡이 등의 다양한 균주에 의한 직접적 감염과 암과 같은 종양 질환에서 급격한 조직의 증식에 의해 일어난다¹⁾.

이러한 염증질환에 대한 치료방법으로 항생제 사용, 수술 요법 및 항암 요법 등이 대표적으로 사용되지만 수반되는 다양한 부작용, 만성적 재발 및 면역저하 등의 한계점으로 인해 이를 극복할 수 있는 천연물의 약리효과에 대한 관심이 매우 높은 편이다²⁻⁵⁾.

한의학에서는 “眞氣從止 精神內守 病安從來”, “邪之所湊 其氣必虛” 및 “風雨寒熱不得虛 邪不能獨傷人” 등이라 하여 외부 감염에 대한 인체의 면역력의 중요성을 인식하였고⁶⁻⁷⁾, 한약과 침 등의 치료방법이 면역계의 조절과 활성화에 미치는 영향에 대한 다양한 연구들이 보고되었다⁸⁻¹¹⁾.

魚腥草는 삼백초과(*Saururaceae*)에 속하는 약모밀(*Houttuynia cordata THUNB*)의 풀로 性味が 微寒辛하고, 淸熱解毒, 消癰排膿 및 利尿通淋 등의 효능이 있어 肺癰吐膿, 痰熱喘咳, 熱痢淋, 帶下, 產後發熱 및 癰腫瘡毒 등의 질환에 사용되며^{1,12)}, 항염효과, 항종양효과 및 면역증진 효과 등의 연구가 보고되었다¹³⁻¹⁵⁾.

하지만, 魚腥草의 마우스 대식세포의 면역증진 효과에 관한 다양한 인자와 농도별 연구가 부족하여 저자는 어성초 물 추출물을 mouse macrophage RAW264.7 cell의 NO, H₂O₂, IL-1 β , IL-6 및 TNF- α 등의 생성에 미치는 영향을 조사하였고,

유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재 료

1) 약 재

실험에 사용된 魚腥草는 (주) 옴니허브(대구, 한국)로부터 2010년 5월에 구입하였고, 사용 전에 초음파 세척기(Branson, USA)를 이용하여 불순물을 제거한 후 실험에 사용하였다.

2) 세 포

실험에 사용된 대식세포는 mouse macrophage RAW 264.7 cells로 한국 세포주 은행(KCLB, Korea)에서 구입하였다.

3) 시약 및 기기

(1) 시 약

본 실험을 위해서 ethyl alcohol(Samchun Chemical, Korea), DMSO(Sigma, USA), DMEM(Sigma, USA), 1 \times PBS(Sigma, USA), EDTA(Sigma, USA), isopropanol (Sigma, USA), trypsin-EDTA(Sigma, USA), Griess reagent(Sigma, USA), dihydrorhodamine 123(Sigma, USA), Bio-Plex cytokine assay kit(Bio-Rad, USA) 및 Procarta kit(Panomics, USA) 등이 사용되었다.

(2) 기 기

본 실험에 사용된 기기는 filter paper (Advantec No.2, Japan), centrifuge(Hanil, Korea), CO₂ incubator(NUAIRE, USA), rotary vacuum evaporator(Eyela, Japan), 75 cm² flask(Falcon, USA), air compressor (Tamiya, Japan), homogenizer(O-mni, USA), research microscope(Olympus,

Japan), fume hood(Hanil, Korea), clean bench(Jeio thec, Korea), ultrasonic cleaner (Branson, USA), deep freezer(Ilshin Lab Co, Korea), microplate reader(Bio-Rad, USA), thermo aluminum bath(Fine PCR, USA), vortex mixer(Vision Scientific Co, Korea), water bath(In-Tron biotech., Korea), ice-maker(Vision Scientific Co, Korea), Bio-Plex 200(Bio-Rad, USA) 및 spectrofluorometer(Dynex, UK) 등이다.

2. 방 법

1) 시료 제조

어성초 50 g와 1차 증류수 2,000 mL를 환류추출기에 함께 넣은 후 끓는점부터 2시간 동안 가열하여 추출한 뒤 filter paper로 감압 여과한 다음 rotary vacuum evaporator를 이용하여 농축액을 얻었다. 이 농축액을 동결건조기로 건조한 분말을 시료로 사용하였고, 동결건조 추출물은 8.58 g을 얻었으며, 수율은 17.16%였다.

2) 세포 배양

RAW 264.7 cell은 CO₂ 배양기(37°C, 5% CO₂)에서 10% FBS(100 µg/mL)가 첨가된 DMEM 배지에서 배양하였는데, 75 cm² flask에서 3일 간격으로 표면을 PBS 용액으로 씻었고, 50 mL flask 당 1 mL의 0.25% trypsin-EDTA 용액으로 실온에서 1분 동안 처리한 후 37°C에서 5분 동안 보관하여 세포를 탈착하여 계대 배양하였다.

탈착된 세포는 10% FBS가 첨가된 DMEM 배양액 10 ml에 부유시킨 후 새로운 배양용기(50 mL culture flask)에 옮겨 1 : 2의 split ratio로 CO₂ 배양기에

서 배양하였다.

3) NO 생성 측정

L-arginine에서 생성되는 NO는 불안정하기 때문에 안정된 NO₂, MINO₂ 및 M(NO₃)_n 등으로 빠르게 변하고, Griess reagent(0.5%의 sulfanilamide, 2.5%의 phosphoric acid 및 0.5%의 naphthyl ethylenediamine)는 NO₂와 반응하여 NO의 농도와 일치하는 아조염을 형성하기 때문에 microplate reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정한 후 아조염, NO₂ 및 NO 등의 농도와 생성량을 추정하게 된다.

어성초 물추출물이 RAW 264.7 cell의 NO 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 다양한 농도의 어성초 물추출물을 배지에 담아 각 well에 처리한 후 CO₂ 배양기에서 24시간 동안 배양하고, 세포 배양 상층액 100 µl을 채취하여 Griess reagent 100 µl을 혼합한 뒤 15분 동안 반응시킨 다음 microplate reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였는데, NO 생성량은 다음 공식으로 계산되었다.

$$\text{Cell viability}(\%) = \text{AT} / \text{AC} \times 100$$

AC - absorbance of control

AT - absorbance of tested extract solution

4) H₂O₂ 생성 측정

어성초 물추출물이 RAW 264.7의 H₂O₂ 생성에 미치는 영향에 대해 알아보기 위하여 Jirapongsananuruk 등¹⁶⁾의 방법을 응용, DHR 123 assay를 실시하여 측정하였는데, 96 well plate에 1×10⁴ cells/well의 농도로 분주되도록 1×10⁵ cells/mL의 cell을 100 µl씩 넣은 후 CO₂ 배양기에서 24시간 동안 배양한 뒤 배지를 버리고, 배양세포 표면을 PBS 용액

으로 씻어주었다.

DHR(10 μ M)이 담긴 배지를 30분간 각 well에 먼저 처리, 제거한 후 CF를 배지에 담아 각 well에 처리한 뒤 24 시간 동안 CO₂ 배양기에서 배양한 다음 spectrofluorometer를 이용하여 세포내 H₂O₂ 생성량을 측정, 비교하였다.

5) Cytokine 생성 측정

어성초 물추출물이 RAW 264.7의 Cytokine 생성에 미치는 영향에 대해 알아보기 위하여 Politch 등¹⁷⁾의 방법을 응용하였는데, 96 well plate에 1×10⁵ cells/mL의 cell을 100 μ l씩 넣은 후 CO₂ 배양기에서 24 시간 동안 배양한 뒤 배지를 버리고, 배양세포 표면을 PBS 용액으로 씻어준 다음 각 well에 어성초 물추출물을 배지에 담아 처리하고, 24시간 동안 배양하였다.

배양이 끝난 후 상등액을 채취하여 Bio-Plex Suspension Array System을 이용, xMAP technology를 기반으로 한 Quantitative Multiplexed Cytokine /Chemokine Assay를 실시하여 IL-1 β , IL-6 및 TNF- α 등의 생성량을 측정, 비교하였다.

3. 통계처리

본 실험에서 얻은 결과는 평균치 \pm 표준편차(mean \pm SD)로 나타내었고, 대조군과 각 실험군과 평균의 차이는 Student's t-test와 ANOVA test로 분석하여 p-value 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

III. 결 과

1. NO 생성량의 변화

어성초 물추출물을 24시간 처리한 후 RAW 264.7의 NO 생성에 미치는 영향을 비교한 결과 25 μ g/mL 이상의 모든 농도에서 유의한 증가가 나타났다(Table 1, Fig. 1).

Table 1. Effect of HW on NO Production in RAW 264.7

Concentration (μ g/mL)	NO production (%) Mean \pm SD
Normal	100.00 \pm 5.75
HW 25	214.92 \pm 8.71*
HW 50	142.72 \pm 6.12*
HW 100	130.69 \pm 9.83*
HW 200	131.77 \pm 9.08*

HW : Water extract of *Houttuyniae Herba*
Normal : Non-treated

Results are represented as mean \pm SD of more than three independent experiments.

* represents P<0.05 compared to the normal.

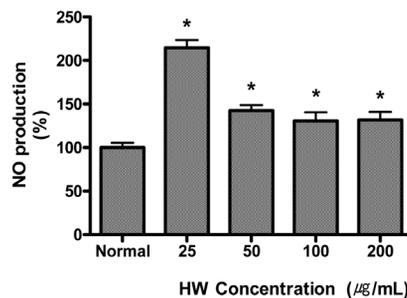


Fig. 1. Effect of HW on NO Production in RAW 264.7.

HW : Water extract of *Houttuyniae Herba*
Normal : Non-treated

Results are represented as mean \pm SD of more than three independent experiments.

* represents P<0.05 compared to the normal.

2. H₂O₂ 생성량의 변화

어성초 물추출물을 24시간 처리한 후

RAW 264.7의 H₂O₂ 생성에 미치는 영향을 비교한 결과 25 µg/mL 이상의 모든 농도에서 유의한 증가가 나타났다(Table 2, Fig. 2).

Table 2. Effect of HW on Hydrogen Peroxide Production in RAW 264.7

Concentration (µg/mL)	Hydrogen Peroxide Production (%)
	Mean±SD
Normal	100.00±3.56
HW 25	114.62±4.87*
HW 50	113.24±4.00*
HW 100	114.08±4.22*
HW 200	113.87±4.03*

HW : Water extract of *Houttuyniae Herba*
 Normal : Non-treated
 Results are represented as mean ± SD of more than three independent experiments.
 * represents P<0.05 compared to the normal.

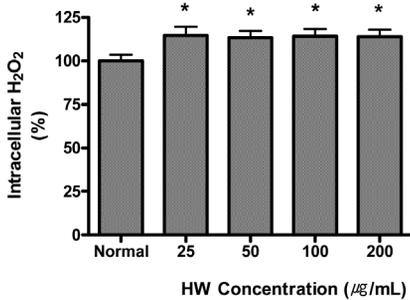


Fig. 2. Effect of HW on H₂O₂ Production in RAW 264.7.

HW : Water extract of *Houttuyniae Herba*
 Normal : Non-treated
 Results are represented as mean ± SD of more than three independent experiments.
 * represents P<0.05 compared to the normal.

3. Cytokine 생성량의 변화

1) IL-1β 생성량의 변화

어성초 물추출물을 24시간 처리한 후 RAW 264.7의 IL-1β 생성에 미치는 영향을 조사한 결과 100와 200 µg/mL의 농도에서 유의한 증가가 나타났다(Table

3, Fig. 3).

Table 3. Effect of HW on IL-1β Production in RAW 264.7

Concentration (µg/mL)	IL-1β production (pg/mL)
	Mean±SD
Normal	4.30±0.50
HW 50	4.00±0.00
HW 100	9.60±1.38*
HW 200	9.80±1.26*

HW : Water extract of *Houttuyniae Herba*
 Normal : Non-treated
 Results are represented as mean ± SD of more than three independent experiments.
 * represents P<0.05 compared to the normal.

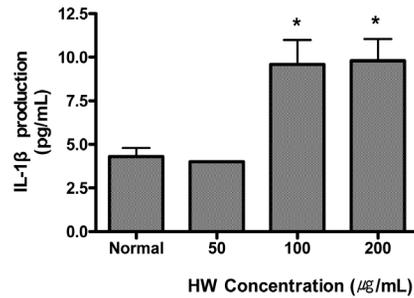


Fig. 3. Effect of HW on IL-1β Production in RAW 264.7.

HW : Water extract of *Houttuyniae Herba*
 Normal : Non-treated
 Results are represented as mean ± SD of more than three independent experiments.
 * represents P<0.05 compared to the normal.

2) IL-6 생성량의 변화

어성초 물추출물을 24시간 처리한 후 RAW 264.7의 IL-6 생성에 미치는 영향을 조사한 결과 100과 200 µg/mL의 농도에서 유의한 증가가 나타났다(Table 4, Fig. 4).

Table 4. Effect of HW on IL-6 Production in RAW 264.7

Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	IL-6 production (pg/mL)
	Mean \pm SD
Normal	395.80 \pm 74.47
HW 50	342.30 \pm 23.90
HW100	704.30 \pm 147.19*
HW200	762.30 \pm 82.97*

HW : Water extract of *Houttuyniae Herba*
 Normal : Non-treated
 Results are represented as mean \pm SD of more than three independent experiments.
 * represents $P < 0.05$ compared to the normal.

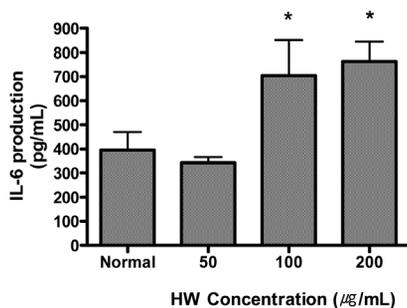


Fig. 4. Effect of HW on IL-6 Production in RAW 264.7.

HW : Water extract of *Houttuyniae Herba*
 Normal : Non-treated
 Results are represented as mean \pm SD of more than three independent experiments.
 * represents $P < 0.05$ compared to the normal.

3) TNF- α 생성량의 변화

어성초 물추출물을 24시간 처리한 후 RAW 264.7의 TNF- α 생성에 미치는 영향을 조사한 결과 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상의 모든 농도에서 유의한 증가가 나타났다 (Table 5, Fig. 5).

Table 5. Effect of HW on TNF- α Production in RAW 264.7

Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	TNF- α production (pg/mL)
	Mean \pm SD
Normal	14.30 \pm 3.40
HW 50	79.30 \pm 11.35*
HW 100	1512.30 \pm 132.48*
HW 200	1501.90 \pm 68.24*

HW : Water extract of *Houttuyniae Herba*
 Normal : Non-treated
 Results are represented as mean \pm SD of more than three independent experiments.
 * represents $P < 0.05$ compared to the normal.

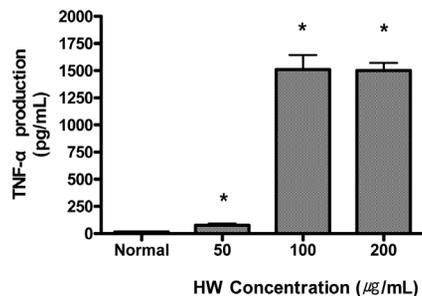


Fig. 5. Effect of HW on TNF- α Production in RAW 264.7.

HW : Water extract of *Houttuyniae Herba*
 Normal : Non-treated
 Results are represented as mean \pm SD of more than three independent experiments.
 * represents $P < 0.05$ compared to the normal.

IV. 고 찰

여성 생식기의 염증성 반응은 외부 균의 감염으로 인한 외음부, 질염, 자궁, 난소 및 골반 등의 다양한 부위에서 나타날 수 있고, 비만이나 악성종양 같은 조직의 증식성 상황에서도 나타날 수 있다¹⁾.

서양의학에서는 감염성 질환에 대해 항바이러스제, 항생제 및 항진균제 등으로 균을 일차적으로 제어하지만 반응이 미약하거나 강력한 치료가 필요할 때는

스테로이드를 병행하여 사용하는데 이들 치료는 부작용으로 인해 반복적 또는 장기적 사용에 대해서는 주의가 필요하다¹⁸⁾.

그리고, 악성종양에 대해서는 수술, 방사선요법 및 화학요법 등을 시행하여 종양세포를 제거하지만 인체의 정상세포에 대한 손상과 이로 인한 면역기능의 저하가 우려되어 이에 대한 대안적 치료가 시급한 실정이다¹⁾.

특히 여성 생식기의 질환은 난임, 이상임신 및 불임 등으로 인한 출산을 저하나, 만성 골반통이나 수술로 인한 심신의학적 질환 등의 이차적 문제를 야기할 수 있으므로 새로운 치료의 필요성이 더욱 높은 편이다¹⁹⁻²⁰⁾.

한의학에서 이들 질환과 관련하여 陰痛, 陰瘡, 陰痒, 邪客子門, 熱入血室, 痛經, 帶下 및 癥瘕 등에서 유사점을 찾을 수 있는데¹⁾, 淸熱解毒祛濕과 行氣活血祛瘀하는 치료원칙을 기반으로 韓藥, 鍼灸, 外敷 및 保留灌腸 療法 등의 다양한 치료법이 사용되고 있다²¹⁻²⁵⁾.

어성초는 《名醫別錄》²⁷⁾에 “藪”으로 기재되었으며 癰를 치료하고 억제하며 組織再生을 촉진하는 작용을 하는 것으로 알려져 있고²⁸⁾, 淸熱解毒하고 利尿消腫하는 효능이 있어 肺와 大腸의 악취를 수반하는 염증질환에 응용되었고, 주요 성분인 flavonoids와 linolenic acid, KCI 등은 항균, 항바이러스 작용, 소염작용, 이뇨작용 및 항암작용 등이 있다고 알려져 있으며, 질염, 골반염, 산후발열 및 종양 등의 여성의 염증성 질환에 빈용되고 있다^{1,12,26)}. macrophage는 주요한 면역세포로서 바이러스, 세균 및 곰팡이 등과 같은 다양한 병원체에 반응하여 cytokine, chemokine, NO 및 H₂O₂ 등의 다양한 면

역염증매개물질들을 생성, 배출함으로써 항원에 대한 직접공격, T cell 등에 신호 전달 및 체내의 불필요한 세포제거 등의 작용을 통해 항염작용과 면역반응에서 중요한 역할을 담당하고 있다²⁹⁻³⁴⁾.

이에 본 연구에서는 어성초가 macrophage의 면역활성에 미치는 영향을 살펴보고자 어성초 물추출물을 마우스 macrophage RAW 264.7 cell에 배양한 후 NO, H₂O₂, IL-1 β , IL-6 및 TNF- α 등의 생성량을 측정하여 유의한 변화에 대해 조사하였다.

NO는 일종의 세포신호전달물질로 NOS (nitric oxide synthase)에 의해 체내에서 생산되어 병원체의 증식억제나 사멸작용이 있으며³⁵⁻³⁶⁾, H₂O₂는 일종의 활성산소로서 macrophage의 다양한 병원체를 공격하는데 중요한 역할을 담당하는데^{32,37-38)}, 본 실험에서 어성초 물추출물을 마우스 macrophage RAW 264.7 cell에 24시간의 배양한 결과 25 μ g/mL 이상의 모든 농도에서 NO와 H₂O₂의 생성이 유의하게 증가하였다.

cytokine은 면역반응에 관여하는 림프세포, 염증세포 및 조혈세포 등에서 분비되는 단백질성물질인데, 그 중 T 림프구에서 분비되어 다른 세포들의 상호 작용을 조절하는 기능을 가진 것이 interleukin(IL)이다³⁹⁻⁴⁰⁾.

그 중 IL- β 는 monocyte, macrophage, B-cell, dendritic cell, endothelial cell, neutrophil 및 hepatocyte 등에서 분리되고, T-cell의 활성화, B-cell의 성숙 및 NK cell의 activity 증가 등에 관여하며, IL-2, IL-6 및 TNF- α 등과 함께 pro-inflammatory cytokine으로서 전신성 급성반응을 유도한다⁴¹⁻⁴²⁾.

IL-6는 monocyte와 macrophage에서 분비되고, B-cell이 plasma 세포로 분화 촉진, 항체의 분비 자극, Ig의 생성 유도 및 T-cell의 분화 증식 등에 관여하며, 염증 부위에서 수치가 급격히 증가하는 특징이 있다⁴³⁻⁴⁴⁾.

TNF- α 는 blood monocyte, macrophage, mast cell 및 endothelial cell 등에서 분비되고, 자가면역질환의 염증 개시 및 유지에 핵심적으로 관여하며, pro-inflammatory cytokine으로서 전신성 급성 반응을 유도한다⁴⁵⁾.

macrophage가 활성화되면 그 결과 IL-1 β , IL-6 및 TNF- α 등의 생산이 증가되는데, 본 실험에서 어성초 물추출물을 마우스 macrophage RAW 264.7 cell에 24시간의 배양한 결과 IL-1 β 와 IL-6의 생성을 100과 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 유의하게 증가하였고, TNF- α 의 생성은 50, 100 및 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 등의 모든 농도에서 유의하게 증가하였다.

이상의 결과 어성초 물추출물이 macrophage의 NO, H₂O₂, IL-1 β , IL-6 및 TNF- α 등의 면역매개인자의 생성을 촉진함으로써 면역 활성을 증진시키는 능력이 있음을 알 수 있었고, 이 등¹⁵⁾의 발효 어성초에 대한 연구를 참고하여 추후 염증 자극 후 어성초 물추출물이 농도에 따른 효과를 비롯한 추후 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

어성초(*Houttuynia cordata* THUNB, Saururaceae)를 물추출하여 제조한 시료 HW를 대상으로 마우스 대식세포 RAW

264.7을 이용하여 NO, H₂O₂, IL-1 β , IL-6, TNF- α 등의 면역염증매개인자 생성에 미치는 영향을 측정, 비교하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 어성초 물추출물은 마우스 대식세포의 NO 생성을 25, 50, 100 및 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 등 각각의 농도에서 유의하게 증가시켰다.
2. 어성초 물추출물은 마우스 대식세포의 H₂O₂ 생성을 25, 50, 100 및 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 등 각각의 농도에서 유의하게 증가시켰다.
3. 어성초 물추출물은 마우스 대식세포의 IL-1 β 의 생성을 100와 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 유의하게 증가시켰다.
4. 어성초 물추출물은 마우스 대식세포의 IL-6의 생성을 100와 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 유의하게 증가시켰다.
5. 어성초 물추출물은 마우스 대식세포의 TNF- α 생성을 50, 100 및 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 등 각각의 농도에서 유의하게 증가시켰다.

이러한 결과는 어성초 물추출물이 대식세포의 NO, H₂O₂, TNF- α , IL-1 β , IL-6 및 TNF- α 등의 면역매개인자의 생성을 촉진함으로써 침입성 병원체와 노화세포 잔존물을 제거 하는 대식세포 기능이 있다고 사료된다.

투 고 일 : 2012년 04월 25일

심 사 일 : 2012년 05월 11일

게재확정일 : 2012년 05월 15일

참고문헌

1. 한의부인과학 편찬위원회. 한의부인과학. 서울:정담. 2001:1:256-65.
2. Lefkowitz JB. Cyclooxygenase-2 specificity and its clinical implications. *American journal of Medicine*. 1999;106:43-50.
3. 壽淸和. 辨證治療慢性盆腔炎53例. 浙江:浙江中醫雜誌. 1999;34(5):195.
4. 姚寓晨, 姚石安. 提高慢性盆腔炎療效的思路. 1998;39(3):180-1.
5. 白力力. 內服灌腸治療慢性盆腔炎100例. 上海:上海中醫藥雜誌. 1989;6:25-6.
6. 楊維傑. 黃帝內經素門. 台聯:國風出版社. 1991:3, 266.
7. 洪元植. 精矯 黃帝內經靈樞. 서울:동양의학연구원. 1985:286.
8. 강대원, 강석봉. 固眞飮子가 methotrexate로 유발된 흰쥐의 免疫機能低下에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2004;15(4):117-28.
9. 변성희, 양재하, 김상찬. 玄蓼 메탄올 추출물이 LPS로 유도된 RAW 264.7 cell 에서의 TNF- α , IL-1 β , IL-6 및 nitric oxide 생성에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2005;20(2):7-16.
10. 박완수. 바실러스균 醱酵黃芩약침액이 lipopolysaccharide로 활성화된 마우스 대식세포의 인터루킨 생성에 미치는 영향. 경락경혈학회지. 2010;27(2):95-105.
11. 김대희 등. LPS로 활성화된 대식세포에서 黃蓮解毒湯 물추출물의 염증 매개물질 억제효과. 대한본초학회지. 2009;24(4):39-47.
12. 전국한의과대학 공동교재편찬위원회. 본초학. 서울:영림사. 2007:270-1.
13. 배원영, 고흥균, 김창환. 魚腥草 약침이 B16 흑색종 암모델에 대한 항종양효과 및 면역반응에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2001;18(1):186-201.
14. 송호준, 신민교. 魚腥草 추출물이 肺炎誘發 생쥐의 면역반응 및 조직변화에 미치는 영향. 대한본초학회지. 1987;2(1):65-150.
15. 이지영, 이영중, 박완수. 醱酵魚腥草 물추출물의 마우스 대식세포 항염활성 연구. 대한본초학회지. 2010;25(3):27-34.
16. Jirapongsananuruk O et al. Diagnostic paradigm for evaluation of male patients with chronic granulomatous disease, based on the dihydrorhodamine 123 assay. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111(2):374-9.
17. Politch JA, Tucker L, Bowman FP, Anderson DJ. Concentrations and significance of cytokines and other immunologic factors in semen of healthy fertile men. *Hum Reprod*. 2007;22(11):2928-35.
18. 이연아 등. 황련 추출물의 항염 효과. *J Kyung Hee Univ Med Cent*. 2007;23(1):21-6.
19. 강병철 발행. *Current Medical Diagnosis & Treatment*. 서울:한우리 출판사. 1999:798-800.
20. 김정현, 이태균. 골반염에 관한 문헌적 고찰. 대한한방부인과학회지. 1994;7(1):31-46.
21. 서지영, 김윤상, 임은미. 만성골반염 환자에 대한 치료 1예. 대한한방부인과학회지. 2002;15(4):218-27.

22. 司從儀, 楊家林. 婦人專病中醫臨床論治. 北京:人民衛生出版社. 2001:224-64.
23. 반혜란, 이진아, 조성희. 만성골반염에 대한 임상1례 보고. 대한한방부인과학회지. 2005;18(1):253-61.
24. 高樹中. 中醫肛腸療法大全. 濟南:濟南出版社. 1994:1-16.
25. 孫冠蘭. 中藥保留灌腸臨床應用近況. 中醫雜誌. 1991;9:50-2.
26. 김호철. 한약약리학. 서울:집문당. 2001:165-6.
27. 陶弘景. 名醫別錄. 北京:人民衛生出版社. 1986:311-2.
28. 戴新民. 抗癌中草藥. 台北:啓業書局有限公司. 1987:15-7.
29. Naito M. Macrophage differentiation and function in health and disease. *Pathol Int*. 2008;58(3):143-55.
30. Lingnau M et al. Interleukin-10 enhances the CD14-dependent phagocytosis of bacteria and apoptotic cells by human monocytes *Hum Immunol*. 2007;68(9):730-8.
31. Guha M, Mackman N. LPS induction of gene expression in human monocytes. *Cell signal*. 2001;13(2):85-94.
32. Newman SL. Macrophages in host defense against *Histoplasma capsulatum*. *Trends Microbiol*. 1999;7(2):67-71.
33. Morrison DC, Ryan JL. Endotoxins and disease mechanisms. *Annu Rev Med*. 1987;38:417-32.
34. Tracey KJ et al. Anti-cachectin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia. *Nature*. 1987;330:662-4.
35. Maruotti N et al. Macrophages in rheumatoid arthritis. *Histol Histopathol*. 2007;22(5):581-6.
36. MacMicking J, Xie QW, Nathan C. Nitric oxide and macrophage function. *Annu Rev Immunol*. 1997;15:323-50.
37. Guinazu N et al. Induction of NADPH oxidase activity and reactive oxygen species production by a single *Trypanosoma cruzi* antigen. *Int J Parasitol*. 2010;40(13):1531-8.
38. Supek F et al. Function of metal-ion homeostasis in the cell division cycle, mitochondrial protein and processing, sensitivity to mycobacterial infection and brain function. *J Exp Biol*. 1997;200(Pt2):321-30.
39. 김세중. 면역학 길라잡이. 서울:고려의학. 2000:65-8.
40. 홍천수 譯. Pathology로 이해하는 내과학. 서울:도서출판 정담. 2002:10-2.
41. 대한병리학회. 병리학 I. 서울:KMS. 2007:76-108.
42. Delgado AV, McManus AT, Chambers JP. Production of tumor necrosis factor- α , IL-1 β , IL-2 and IL-6 by rat leukocyte subpopulations after exposure to substance P. *Neuropeptides*. 2003;37(6):355-61.
43. Jirik FR et al. Bacterial lipopolysaccharide and inflammatory mediators augment IL-6 secretion by human endothelial cells. *J Immunol*. 1989;142(1):144-7.
44. Chen F, Castranova V, Shi X. New insights into the role of nuclear factor- κ B in cell growth regulation. *Am J Pathol*. 2001;159(2):387-97.
45. Lee AK et al. Inhibition of lipopolysaccharide

-inducible nitric oxide synthase, TNF- α , and COX-2 expression by sauchinone effects on I- κ B α phosphorylation,

C/EBP and AP-1 activation. British Journal of Pharmacology. 2003;139 :11-20.