

龍肉調胃湯 증류액이 노화 흰쥐 비장 세포의 면역활성에 미치는 영향

이진욱 · 장문희 · 최재송 · 안택원

대전대학교 한의과대학 사상체질의학

Abstract

The Effect of Yongyukjowitang Distillate on the Immune Activity of Spleen Cells of Aged Rats

Jin-Wook Yi, Moon-Hee Jang, Jae-Song Choi, Taek-Won Ahn

Dept. of Sasang Constitutional Medicine, College of Korean Medicine, Daejeon University

Objectives

The purpose of this study was to investigate the effect of Yongyukjowitang(YJT) distillate on the immune activity of spleen cells of aged SD rats.

Methods

Spleen cells from 10w, 52w, 72w old rats were stimulated with Concanavalin A(Con A) and treated with Vitamin C(Vit.C) or Yongyukjowitang distillate(YJT). After 24 hours, levels of IL-2, IL-4, IL-10, IFN- γ were measured using ELISA in spleen cells.

Results and Conclusions

1. The concentration of IL-2, IL-4 in spleen cells of 52 weeks old SD rats(YJT group) significantly decreased in comparison with ConA group.
2. The concentration of IFN- γ in spleen cells of 72 weeks old SD rats significantly increased in comparison with 10 weeks old SD rats(NT group), but decreased in comparison with 10 weeks old SD rats(YJT group).
These results suggest that Yongyukjowitang distillate has an effect on the immune activity of spleen cells of aged SD rats.

Key Words: Yongyukjowitang, Immune activity, Spleen cells, Cytokine, Aged rats

I. 緒論

통계청에서 보도 자료로 발표한 2012년 고령자 통계(2012. 9. 27 배포)에 따르면, 65세 이상의 고령자는 전체 인구의 11.8%, 고령가구의 비중은 18.9%로 매년 증가하는 추세로 곧 고령사회에 도달할 것으로 예측되고 있다. 또한 고령자의 의료비는 전체 의료비의 32.2% 수준으로 고령화 사회로 진행함에 따라 많은 사회적, 경제적 문제들이 대두되고 있는 실정이다¹. 증가하고 있는 고령 인구의 영향으로 인간의 단순한 수명 연장뿐만 아니라 병이 없는 건강한 상태의 노화에 대한 관심이 지속적으로 높아지고 있다.

노화란 인체의 점진적인 생리적 재생 기능의 저하로 인하여 인체의 조직 내에 활동 가능한 세포의 수가 감소하고, 이로 인하여 발생하는 전반적인 인체 기능의 저하를 의미 한다². 노화의 진행속도는 인종, 개인차, 유전적 차이에 따라 다르며 환경적 요인에 의해서도 많은 영향을 받는다³.

현대의학에서는 진화론, 세포설, 분자설, 계통설, 분자 염색체 등의 다양한 이론을 노화의 원인으로 제시⁴하였으나 대부분 학설에 불과하여 분명한 원인에 대한 분명한 제시가 없다. 최근에 제시되고 있는 여러 가지 원인 중에서 '인체 면역 기능의 변화로 인하여 노화가 발생한다는 학설이 주목을 받고 있다⁵.

한의학에서는 노화의 원인을 陰陽의 변화, 臟腑의 변화, 精氣神血의 변화, 先天 및 後天의 관계 등으로 설명하고 있으며⁶, 사상의학에서는 수명과 노화에 대하여 인생과정에서 命脈의 변화와 生息充補之道의 변화를 통하여 설명하고 있다⁷. 최근 『東醫壽世保元』⁷에 제시되어 있는 사상체질처방을 활용한 노화와 면역에 관련된 실험적인 연구들⁸⁻¹³이 활발하게 진행 중이다.

용육조위탕(龍肉調胃湯;Yongyukjowitang;YJT)은 사상체질 중 太陰人 체질의 사람이 오랫동안 병을 앓거나 큰 병을 앓고 난 후에 調理를 위하여 사용하는 처방으로 龍眼肉, 乾栗, 栝子仁, 麥門冬의 총 4가지의 약물로 구성되어 있다¹⁴. 이 처방은 태음인의 保

命之主인 呼散之氣를 완만하게 도와주어 허약한 태음인에게 다용할 수 있는 처방으로 특히 면역력과 체력이 약한 소아나 노인 환자들에게 면역 증강, 노화 방지의 우수한 효과가 있을 것으로 기대된다.

이에 저자는 향후 진행되는 임상 실험을 위한 기초 연구로서 YJT가 노화 흰쥐 비장세포의 면역 활성화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 다양한 주령의 Sprague-Dawley rat(SD rat)의 비장세포에서 분리된 leukocyte에 Concanavalin A(Con A)와 YJT 증류 원액을 처리 후 나타난 면역 관련 검사의 결과를 비교·분석하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 研究方法

1. 재료

1) 동물

동물은 5주령과 24주령의 옹성 SD rat을 (주)중앙실험동물(경기도, 한국)에서 공급받아 10주령, 52주령, 72주령이 될 때까지 실험실에서 사육하여 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 동물은 실험 당일까지 고형 사료(삼양사료, 한국)와 물을 충분히 공급하고, 실험실은 실온(22±2℃)을 유지하였다. 본 실험은 대전대학교 동물실험윤리규정을 준수하여 시행하였다.

2) 약재

본 실험에 사용된 YJT의 약재들은 대전대학교 한방병원 약제실의 검수를 받아 구입하여 이용하였다. YJT의 약재들은 정량하여, 사용하기 전에 증류수에 세척하였다. YJT의 1첩 구성은 다음과 같다 (Table 1).

3) 시약 및 기기

(1) 시약

본 실험에 사용된 시약은 다음과 같다 (Table 2).

Table 1. The Compositions of Yongyukjowitang(YJT)

Herbs	Pharmacognostic name	Scientific name	Dose(g)
龍眼肉	<i>Longanae arillus</i>	<i>Euphoria longana</i>	40
乾栗	<i>Castaneae semen</i>	<i>Castanea crenata</i>	20
柏子仁	<i>Biotae semen</i>	<i>Thuja orientalis</i>	8
麥門冬	<i>Liriopeis tuber</i>	<i>Liriope platyphylla</i>	8
Total			76

Table 2. Reagents

Reagents	Manufacturer	Manufacturing country
3-(4,5-dimethylthiazol-2yl)-2,5diphenyl tetrazolium bromide(MTT)	Sigma	U.S.A.
Trypan blue		
HBSS	Cambrex	
Fetal bovine serum(FBS)	Hyclone	
Antibiotics		
Phosphate buffer saline(PBS)	Lonza	
RPMI-1640 medium		
IL-2 ELISA KIT	R&D	
IL-4 ELISA KIT		
IL-10 ELISA KIT		
IFN- γ ELISA KIT		

Table 3. Instruments

Instruments	Manufacturer	Manufacturing country
Specrophotometer	Shimazu	Japan
Bio-freezer	Sanyo	
ELISA reader	TARAN	Canada
Ice maker	Vision science	Korea
Cytological centrifuge	Hanil	U.S.A.
Micro centrifuge		

(2) 기기

본 실험에 사용된 기기는 다음과 같다 (Table 3).

2. 방법

1) 약물

YJT 약제 1재를 세척 후 분쇄기로 분쇄하여 골고루 섞은 후 55g을 취하여 1 L의 증류수를 가하고 shaker을 이용하여 3시간동안 전탕을 실시한 다음 여과지로 여과하였다. 증류는 impellar(heating)에 반응조 하부와 반응조 상부조를 설치하고 그 위에 냉각관(환류, 증류)과 분액 여두를 설치하고, YJT 전탕액을 반응조 하부에 넣고, 105℃에서 예열하였다. 탕약이 끓기 시작하

면 추출온도 107℃에 맞춘 뒤, 예열한 전탕액을 다시 3시간동안 전탕을 실시하였다. 이때 냉각수(4℃)가 환류냉각관에서 흐르는지 확인하였다. 시간의 경과에 따라 설정온도 범위(전탕 온도105℃)에서 전탕되었고, 충분히 끓은 약제의 온도가 높아졌으며(추출온도 107℃), 냉각수 순환위치가 바뀔때 따라 반응조 내부에서만 순환하던 기체가 냉각수에 의해 액체화되어, 증류액이 한 방울씩 받아졌다. Table 1의 한 첩 기준으로 YJT 증류액 400 ml을 얻었다. 추출이 끝나고 1 L bottle에 받아진 증류액은 무기염류를 침강시키기 위해서 하루 동안 냉장 보관하였다. 하루 동안 냉장 보관된 YJT 증류액은 filtering하고, 멸균된 bottle에 넣어 실험에 사용될 때까지 -20℃에서 냉동 보관하여 실험

Table 4. Effect of YJT on the Level of Various Immune Cytokines in Rat Spleen Cell Culture Supernatant.

	Age	NT (No treatment)	ConA (ConA only)	Vit.C (ConA+Vit.C)	YJT (ConA+YJT)
IL-2	10w	0.115±0.007	0.497±0.017	0.428±0.046	0.347±0.042
	52w	0.337±0.106	0.565±0.027	0.451±0.031	0.411±0.068
	72w	0.202±0.037	0.465±0.071	0.394±0.053	0.421±0.034
IL-4	10w	0.111±0.006	0.382±0.013	0.256±0.046	0.280±0.036
	52w	0.224±0.024	0.433±0.039	0.376±0.020	0.336±0.037
	72w	0.225±0.037	0.374±0.033	0.399±0.026	0.344±0.084
IL-10	10w	0.145±0.007	0.650±0.050	0.479±0.012	0.417±0.045
	52w	0.195±0.084	0.547±0.053	0.453±0.115	0.466±0.023
	72w	0.233±0.057	0.553±0.048	0.425±0.044	0.477±0.025
IFN-γ	10w	0.147±0.020	0.734±0.036	0.724±0.014	0.624±0.020
	52w	0.262±0.030	0.576±0.047	0.585±0.008	0.564±0.056
	72w	0.243±0.010	0.556±0.031	0.462±0.024	0.461±0.094

Spleen cells from 10w, 52w, 72w old rats were stimulated with ConA and treated with Vitamin C(Vit.C) or *Yongyukjowitang* distillate(YJT). After 24 hours, the concentrations of immune cytokines in the cell culture supernatant were measured by ELISA. Values represent mean ± SD (n=5)

NT : Cells with no treatment

ConA : Cells treated with ConA for 24 hours.

Vit.C : Cells treated with ConA and Vitamin C for 24 hours.

YJT : Cells treated with ConA and YJT distillate for 24 hours.

전에 해당하여 사용하였다.

2) 면역세포 분리

본 실험은 10주령, 52주령, 72주령의 SD rat의 비장 조직으로부터 얻은 면역세포를 이용하여 수행하였다. HBSS를 관류하여 실험동물의 혈액을 제거한 후, 비장을 적출하였다. 적출된 비장은 RBC를 제거하고, leukocytes만을 분리하였다. 분리된 세포를 안정화시킨 후 실험에 사용하였다.

3) 약물 처리 및 배양

분리된 leukocyte에 아래와 같이 처리하고 37°C에서 24시간 배양하였다.

No treatment군(NT) : 아무런 처리도 하지 않은 세포군

ConA군(Con A) : ConA(50 ug/ml)를 처리한 세포군

Vitamin C군(Vit. C) : ConA(50 ug/ml)와 1% Vitamin C를 처리한 세포군

용육조위탕군(YJT) : ConA(50 ug/ml)와 용육조위탕 증류액 원액을 처리한 세포군

4) ELISA

Cell culture supernatant를 사용하여 ELISA로 IL-2, IL-4, IL-10, IFN-γ의 함량을 측정하였다.

5) 통계 분석

본 실험에서 얻은 결과값은 평균 ± 표준편차로 나타내었다. SPSS 통계프로그램(14.0 KO)의 일원배치 분산 분석(one-way ANOVA)을 사용하여 군간 비교를 하였으며, 사후검정은 Scheffé's test를 이용하였다. 각 실험군의 결과값을 비교하여 신뢰도 95% 이상(p<0.05) 일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

III. 研究結果

10주, 52주, 72주령 rat의 비장에서 면역세포를 분리하여 ConA와 약물을 처리하고 24시간 동안 배양한 후, 면역과 관련된 여러 cytokine 수치를 측정하였다 (Table 4).

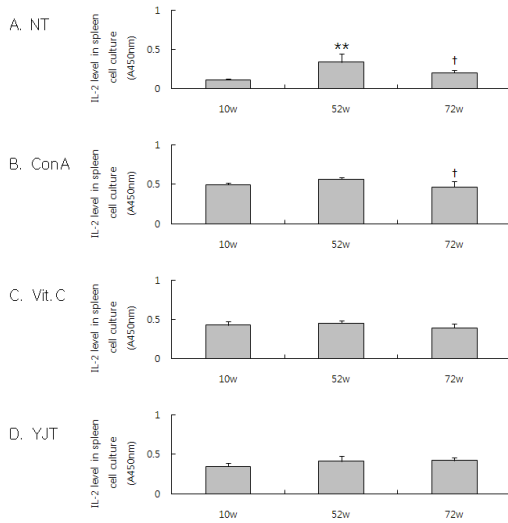


Figure 1. Effect of aging on the level of IL-2 in rat spleen cell.

Spleen cells from 10w, 52w, 72w old rats were stimulated with ConA and treated with Vitamin C(Vit.C) or *Yongyukjowitang* distillate(YJT). After 24 hours, the concentrations of IL-2 in the cell culture supernatant were measured by ELISA. Values represent mean \pm SD (n=5)

NT : Cells with no treatment.

ConA : Cells treated with ConA for 24 hours.

Vit.C : Cells treated with ConA and Vitamin C for 24 hours.

YJT : Cells treated with ConA and YJT distillate for 24 hours.

** : p<0.01 compared to 10w by ANOVA test.

† : p<0.05 compared to 52w by ANOVA test.

1) IL-2

주령별 IL-2의 농도를 비교한 결과, NT군에서는 10주령에 비해 52주령에서 IL-2의 농도가 유의하게 높았고, 52주령에 비해 72주령에서 IL-2의 농도가 유의하게 낮았다. ConA군에서는 52주령에 비해 72주령에서 IL-2의 농도가 유의하게 낮았다 (Figure 1).

약물처리에 따른 IL-2 농도를 비교한 결과, 모든 주령에서 NT군에 비해 ConA군에서 IL-2의 농도가 유의하게 높았고, 10주령과 72주령에서 NT군에 비해 Vit.C군과 YJT군에서 IL-2의 농도가 유의하게 높았다. 10주령에서 ConA군에 비해 Vit.C군과 YJT군에서 IL-2의 농도가 유의하게 낮았으며, 52주령에서 ConA군에

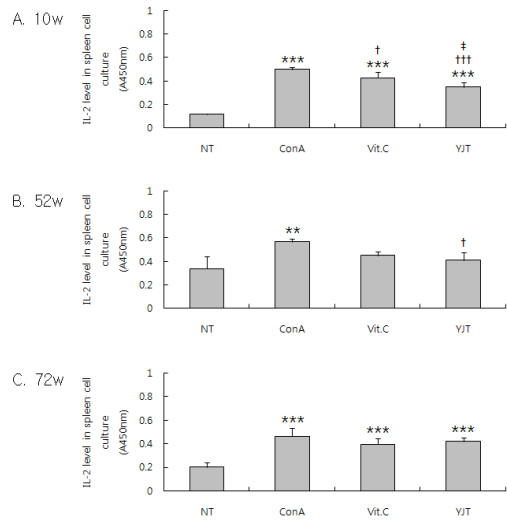


Figure 2. Effect of YJT on the level of IL-2 in rat spleen cell.

Spleen cells from 10w, 52w, 72w old rats were stimulated with ConA and treated with Vitamin C(Vit.C) or *Yongyukjowitang* distillate (YJT). After 24 hours, the concentrations of IL-2 in the cell culture supernatant were measured by ELISA. Values represent mean \pm SD (n=5)

NT : Cells with no treatment.

ConA : Cells treated with ConA for 24 hours.

Vit. C : Cells treated with ConA and Vitamin C for 24 hours.

YJT : Cells treated with ConA and YJT distillate for 24 hours.

*** : p<0.001, ** : p<0.01 compared to NT culture by ANOVA test.

††† : p<0.001, † : p<0.05 compared to ConA culture by ANOVA test.

‡ : p<0.05 compared to Vit.C culture by ANOVA test.

비해 YJT군에서 IL-2의 농도가 유의하게 낮았다. 10주령에서 VitC군에 비해 YJT군에서 IL-2의 농도가 유의하게 낮았다 (Figure 2).

2) IL-4

주령별 IL-4의 농도를 비교한 결과, NT군에서는 10주령에 비해 52주령, 72주령에서 IL-4의 농도가 유의하게 높았다. ConA군에서는 52주령에 비해 72주령에서 IL-4의 농도가 유의하게 낮았다. VitC군에서는 10주령에 비해 52주령에서 IL-4의 농도가 유의하게 높았고, 52주령에 비해 72주령에서 IL-4의 농도가 유의하게 낮았다 (Figure 3).

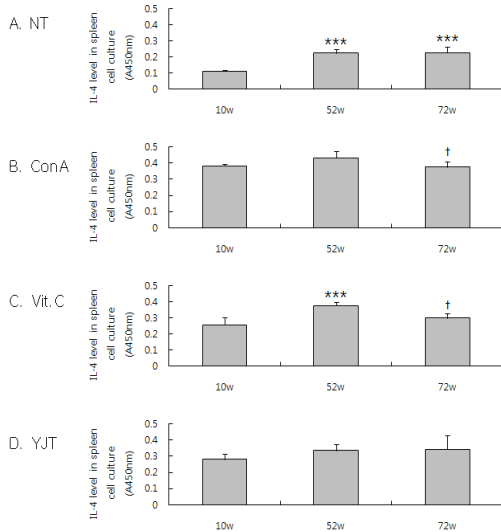


Figure 3. Effect of aging on the level of IL-4 in rat spleen cell.

Spleen cells from 10w, 52w, 72w old rats were stimulated with ConA and treated with Vitamin C(Vit.C) or *Yongyukjowitang* distillate (YJT). After 24 hours, the concentrations of IL-4 in the cell culture supernatant were measured by ELISA. Values represent mean ± SD (n=5)

NT : Cells with no treatment

ConA : Cells treated with ConA for 24 hours.

Vit.C : Cells treated with ConA and Vitamin C for 24 hours.

YJT : Cells treated with ConA and YJT distillate for 24 hours.

*** : p<0.001 compared to 10w by ANOVA test.

† : p<0.05 compared to 52w by ANOVA test.

약물처리에 따른 IL-4 농도를 비교한 결과, 모든 주령에서 NT군에 비해 ConA군에서 IL-4의 농도가 유의하게 높았고, 10주령과 52주령에서 NT군에 비해 Vit.C군과 YJT군에서 IL-4의 농도가 유의하게 높았고, 72주령에서 NT군에 비해 YJT군에서 IL-4의 농도가 유의하게 높았다. 10주령에서 ConA군에 비해 Vit.C군과 YJT군에서 IL-4의 농도가 유의하게 낮았으며, 52주령에서 ConA군에 비해 YJT군에서 IL-4의 농도가 유의하게 낮았다 (Figure 4).

3) IL-10

주령별 IL-10의 농도를 비교한 결과, ConA군에서는

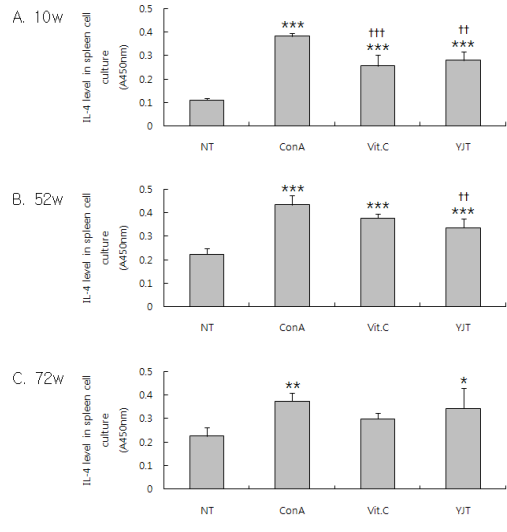


Figure 4. Effect of YJT on the level of IL-4 in rat spleen cell.

Spleen cells from 10w, 52w, 72w old rats were stimulated with ConA and treated with Vitamin C(Vit.C) or *Yongyukjowitang* distillate (YJT). After 24 hours, the concentrations of IL-4 in the cell culture supernatant were measured by ELISA. Values represent mean ± SD (n=5)

NT : Cells with no treatment

ConA : Cells treated with ConA for 24 hours.

Vitamin C : Cells treated with ConA and Vitamin C for 24 hours.

YJT : Cells treated with ConA and YJT distillate for 24 hours.

*** : p<0.001, ** : p<0.01, * : p<0.05 compared to NT culture by ANOVA test.

††† : p<0.001, †† : p<0.01 compared to ConA culture by ANOVA test.

10주령에 비해 52주령, 72주령에서 IL-10의 농도가 유의하게 낮았다. YJT군에서는 10주령에 비해 72주령에서 IL-10의 농도가 유의하게 높았다 (Figure 5).

약물처리에 따른 IL-10 농도를 비교한 결과, 모든 주령에서 NT군에 비해 ConA군, Vit.C군, YJT군에서 IL-10의 농도가 유의하게 높았다. 10주령에서 ConA군에 비해 Vit.C군과 YJT군에서 IL-10의 농도가 유의하게 낮았으며, 72주령에서 ConA군에 비해 Vit.C군에서 IL-10의 농도가 유의하게 낮았다 (Figure 6).

4) IFN-γ

주령별 IFN-γ의 농도를 비교한 결과, NT군에서는

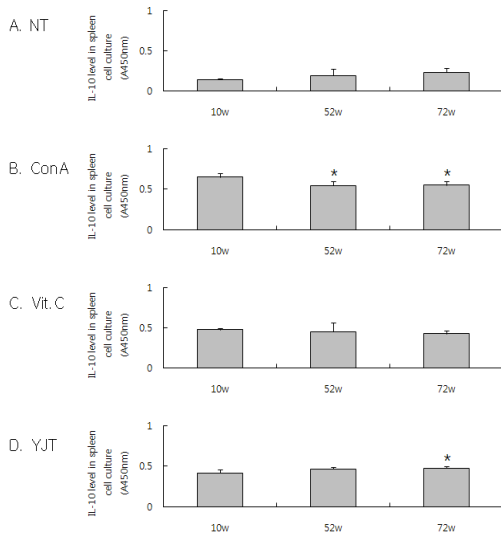


Figure 5. Effect of aging on the level of IL-10 in rat spleen cell.

Spleen cells from 10w, 52w, 72w old rats were stimulated with ConA and treated with Vitamin C(Vit.C) or *Yongyukjowitang* distillate(YJT). After 24 hours, the concentrations of IL-10 in the cell culture supernatant were measured by ELISA. Values represent mean \pm SD (n=5)

NT : Cells with no treatment

ConA : Cells treated with ConA for 24 hours.

Vit.C : Cells treated with ConA and Vitamin C for 24 hours.

YJT : Cells treated with ConA and YJT distillate for 24 hours.

* : p<0.05 compared to 10w by ANOVA test.

10주령에 비해 52주령, 72주령에서 IFN- γ 의 농도가 유의하게 높았다. ConA군에서는 10주령에 비해 52주령, 72주령에서 IFN- γ 의 농도가 유의하게 낮았다. Vit.C군에서는 10주령에 비해 52주령, 72주령에서 IFN- γ 의 농도가 유의하게 낮았으며, 52주령에 비해 72주령에서 IFN- γ 의 농도가 유의하게 낮았다. YJT군에서는 10주령에 비해 72주령의 IFN- γ 의 농도가 유의하게 낮았다 (Figure 7).

약물처리에 따른 IFN- γ 의 농도를 비교한 결과, 모든 주령에서 NT군에 비해 ConA군, Vit.C군, YJT군에서 IFN- γ 의 농도가 유의하게 높았다. 10주령에서 ConA군과 Vit.C군에 비해 YJT군에서 IFN- γ 의 농도가

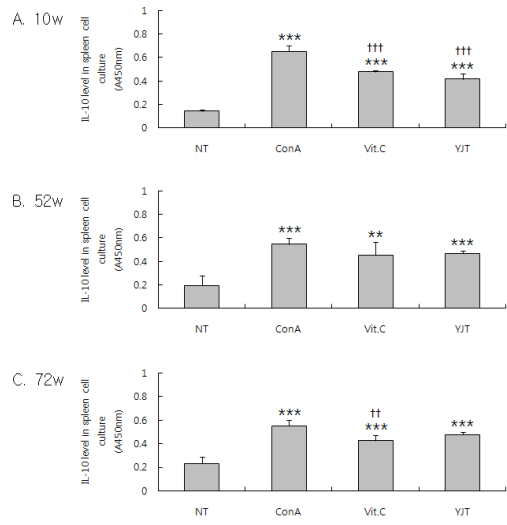


Figure 6. Effect of YJT on the level of IL-10 in rat spleen cell.

Spleen cells from 10w, 52w, 72w old rats were stimulated with ConA and treated with Vitamin C(Vit.C) or *Yongyukjowitang* distillate (YJT). After 24 hours, the concentrations of IL-10 in the cell culture supernatant were measured by ELISA. Values represent mean \pm SD (n=5)

NT : Cells with no treatment

ConA : Cells treated with ConA for 24 hours.

Vitamin C : Cells treated with ConA and Vitamin C for 24 hours.

YJT : Cells treated with ConA and YJT distillate for 24 hours.

*** : p<0.001, ** : p<0.01 compared to NT culture by ANOVA test.

††† : p<0.001, †† : p<0.01 compared to ConA culture by ANOVA test.

유의하게 낮았다 (Figure 8).

IV. 考 察

인간은 다른 동물과 마찬가지로 胎內에서 발생하여 차차 성장하고 발육의 정점에 도달한 후 서서히 쇠퇴하여 죽음에 이르게 된다. 인간의 신체 구조와 기능은 시간이 경과함에 따라 피할 수 없는 어떤 변화가 일어나기 마련인데, 이것을 노화라고 한다¹⁵.

노화는 모든 유기체에 공통적으로 나타나며, 시간의 경과에 따라 진행하며, 노화의 속도는 각 개체마다

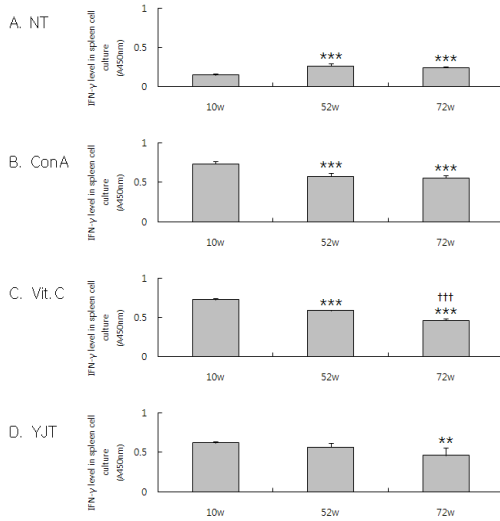


Figure 7. Effect of aging on the level of IFN- γ in rat spleen cell.

Spleen cells from 10w, 52w, 72w old rats were stimulated with ConA and treated with Vitamin C(Vit.C) or *Yongyukjowitang* distillate(YJT). After 24 hours, the concentrations of IFN- γ in the cell culture supernatant were measured by ELISA. Values represent mean \pm SD (n=5)

NT : Cells with no treatment

ConA : Cells treated with ConA for 24 hours.

Vit.C : Cells treated with ConA and Vitamin C for 24 hours.

YJT : Cells treated with ConA and YJT distillate for 24 hours.

*** : p<0.001, ** : p<0.01 compared to 10w by ANOVA test.

† † † : p<0.001 compared to 52w by ANOVA test.

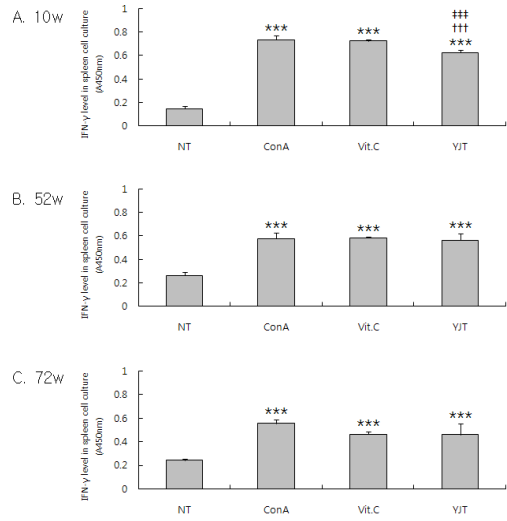


Figure 8. Effect of YJT on the level of IFN- γ in rat spleen cell.

Spleen cells from 10w, 52w, 72w old rats were stimulated with ConA and treated with Vitamin C(Vit.C) or *Yongyukjowitang* distillate(YJT). After 24 hours, the concentrations of IFN- γ in the cell culture supernatant were measured by ELISA. Values represent mean \pm SD (n=5)

NT : Cells with no treatment

ConA : Cells treated with ConA for 24 hours.

Vitamin C : Cells treated with ConA and Vitamin C for 24 hours.

YJT : Cells treated with ConA and YJT distillate for 24 hours.

*** : p<0.001 compared to NT culture by ANOVA test.

† † † : p<0.001 compared to ConA culture by ANOVA test.

‡ ‡ ‡ : p<0.001 compared to Vit.C culture by ANOVA test.

차이가 나고, 누구에게나 예외 없이 보편적으로 나타나는 비가역성 변화로 결국 사망에 이르게 된다¹⁶.

현재까지 제시된 노화에 관한 가설에는 시계 생존설, 유전자설, 유리기설, 내분비 및 면역설 등이 있다. 시계 생존설이란 인간을 포함한 모든 생물은 일정 기간을 생존한다는 것이고, 유전자설은 DNA 유전정보의 문제나 복제과정 및 세포분열 과정에서의 문제로 결국 노화가 촉진된다는 가설이다. 또한 유리기설은 체내산화의 증가와 항산화 효소의 감소로 인해 노화가 촉진된다는 이론으로 활성산소를 노화의 원인으로 제시하고 있고, 내분비 및 면역설은 각종 호르몬의 분비, 합성의 저하와 면역세포의 면역체 생성 약화에 의하여 노화가 발생한다는 것이다¹⁷.

면역이란 인체의 생명활동의 한 부분으로 나와 남을 구분하여 적으로부터 인체를 방어하는 기능이다¹⁸. 내분비 및 면역설은 자가 면역 이론이라고도 하는데, 정상적인 면역계의 기능변화에 의해 인간의 노화가 진행된다고 주장하는 이론이다. 인간이 나이가 들면서 면역세포가 다양화되고 신체와 조직 간의 자가 조절 능력이 점차 퇴화하는데, 이로 인하여 자신의 정상 세포가 외부의 이물질로 인식되고, 면역계가 이를 공격한다. 따라서 노년에는 불필요한 면역반응이 증가하여 과알부민혈증, 자가 면역 질환, 악성 종양 같은 질환이 다발하고, 면역력 저하에 의한 감염의 질환이 많아진다. 항진된 자가 면역 작용에 의하여 아밀로이드증, 압, 당뇨병 등이 유발되고, 죽상경화증, 고혈압,

색전증 등의 질환과도 관련이 깊어 심혈관 질환, 알레르기성 질환, 류마티스성 질환 역시 면역계의 기능 저하와 관련이 깊다¹⁶.

즉, 나이가 들면서 면역계의 항체 생산력이 감소하여 외계 항원에 대한 저항력이 떨어질 뿐 아니라, 면역 인식 장애로 자가 항체의 생산이 증가하여 자신 몸의 세포 조직을 스스로 파괴하여 노화가 진행된다는 것으로 노화와 면역은 매우 밀접한 관계가 있다⁵.

韓醫學에서 면역의 개념은 『黃帝內經』에서부터 유래된다고 볼 수 있는데, “眞氣從之, 精神內守, 病安從來”, “正氣存內, 邪不可干”, “邪之所湊, 其氣必虛” 등으로 인식된다. 질병을 인체의 正氣와 病邪가 서로 타투는 과정으로 보고, 正氣의 강하고 약함이 직접적으로 질병의 발생, 발전, 변화를 결정한다고 인식하였으며, 이를 바탕으로 扶正去邪의 치료 법칙을 완성하였다⁹.

의사의 침입을 방어하는 正氣을 ‘衛氣’라고 명하였는데, 衛氣가 충실하고 邪氣가 박약하면 邪氣가 침입하지 못하고, 만약 邪氣가 침입을 하였더라도 衛氣가 즉시 邪氣를 몰아내어 병이 발생하는 것을 막는다. 衛氣가 허약한 상태에서 邪氣가 침입을 하면, 衛氣와 邪氣의 다툼에서 衛氣가 邪氣를 이기지 못하여 邪氣가 체내에 남게 되고 질병이 발생한다. 이와 같은 衛氣의 작용은 현대의학에서의 면역 작용과 매우 유사하며, 衛氣와 邪氣가 다투는 과정은 인체의 다양한 기관에서 복합적으로 나타나는 면역 반응들과 같은 개념으로 볼 수 있다¹⁹.

또한, 『黃帝內經 素問』 「四氣調神大論」에서 “是故聖人不治已病, 治未病, 不治已亂, 治未亂, 此之謂也.”라고 하였고, 『黃帝內經 素問』 「刺熱論」에서는 “肝熱病者, 左頰先赤, 心熱病者, 顏先赤, 脾熱病者, 脾先赤, 肺熱病者, 右頰先赤, 腎熱病, 頤先赤. 病雖未發, 見赤色者刺之, 名曰治未病.”이라 하여 아직 병이 발생하지 않고 병들기 이전인 “未病”의 상태를 제시하여 正氣의 손상이 심하지 않은 평소 건강 상태의 생활 관리의 중요성을 강조하였다²⁰.

韓醫學에서는 노화를 질병의 개념보다는 인간이 살아가는 과정인 生長壯老死의 과정을 거치면서 자연적인 법칙에 따라 변화하는 정상적인 생명현상으로 인식하고, 不老, 長壽란 죽음을 거부하는 것이 아니라 정신적, 육체적으로 건강한 삶을 영위하고 천수를 누리는 것으로 정의하였다²¹.

노화의 원인은 陰陽의 변화, 臟腑의 변화, 精氣神血의 변화, 先天 및 後天의 관계 등으로 설명하고 있으며⁶, 『黃帝內經 素問』 「上古天真論」에서는 노화의 진행 과정을 남녀로 구분하여 남자 8세, 여자 7세를 기준으로 腎氣와 生殖能力의 盛衰에 따라 사람의 외모 및 動態가 바뀌어 간다고 제시하였다²⁰.

사상의학에서는 수명과 노화의 개념을 인생과정에서 命脈의 변화와 生息 充補之道의 변화를 통하여 설명하고 있고, 장수의 방법으로 酒色財權의 절제를 통한 心慾의 조절을 제시하고 있다. 『濟衆新編』 「五福論」에서는 長壽를 인간의 五福 중에 으뜸으로 꼽아 중요시 생각하였으며, 생명력과 건강지수를 의미하는 지표로 命脈實數를 정의하였고, 神仙, 清朗, 快輕, 康寧의 건강한 사람과 外感, 內傷, 牢獄, 危傾의 병적인 사람의 등급을 각각의 상태에 따라 8가지로 구분하여 설명하였다. 각 체질에 있어서는 偏小之臟에서 발현되는 保命之主를 생명력의 근간으로 命脈을 결정짓는 관건으로 삼았다. 또한, 질병의 치료에 있어서 服藥의 방법 보다는 평소 心慾의 절제와 생활 관리를 통한 치료를 중시하여 질병 발생 이전에 生活調養할 것을 강조하였다⁷.

이와 같이 韓醫學에서는 노화의 원인과 과정에 대한 분명한 인식이 있었으며, 건강관리에 있어서 질병 발생 이전인 “未病” 상태의 調養을 강조하여 평소 건강 상태에서의 정신적, 육체적 관리의 필요성을 제시하였다. 이는 현대 의학에서 중요시하는 인체의 면역 작용과 일치하는 부분이 많으며, 노화의 원인을 찾고 예방을 하는 방법에 있어서 인체의 면역 능력이 관련되어 있음을 알 수 있다.

노화와 면역에 대한 관심은 최근의 한의학계에도 꾸준히 증가하고 있으며, 활발한 연구가 진행 중이다.

약침^{22,23}과 전침^{24,25}의 면역 조절 작용에 관한 연구들과 단일 본초 약재^{26,27}와 복합 처방^{28,29}의 면역 조절 작용에 관한 연구들이 있다. 사상체질처방의 항노화 효과 및 면역 조절 작용의 효과를 입증하는 연구들도 활발히 진행 중으로 香砂養胃湯⁸과 荊防地黃湯⁹ 전탕액을 활용하여 노화 쥐의 항산화능에 미치는 영향에 관한 연구가 있고, 鹿茸大補湯¹⁰과 十二味寬中湯¹¹이 흰쥐의 노화 억제에 미치는 영향에 관한 연구가 있으며, 升陽益氣湯¹²과 清心蓮子湯¹³의 면역 조절 작용 관한 연구들이 있다.

『四象新編』에 소개되어 있는 YJT는 龍眼肉 10錢, 乾栗 5錢, 栝子仁 2錢, 麥門冬 2錢으로 구성된 처방으로 主治는 “治大病後調理”로 기재되어 있다¹⁴. 龍眼肉은 安志와 益智의 효능을 주로 하는 약물로 血의 歸路를 정상화시키는 효능을 기본으로 하여 怔忡이나 驚悸를 가라앉히고 耳目不明을 맑게 하는 작용을 갖는다. 乾栗은 鹹溫한 것이 性味로 益氣하고 腸胃를 두텁게 하며 腎氣를 補하는 효능이 있어 脚弱無力하여 나타나는 脚氣를 치료하는데 쓰인다. 栝子仁은 潤燥하는 성질이 있으며, 驚悸를 가라앉히고 耳目을 聰明하게 하고 五臟에 흐르는 氣를 안정시키는 작용이 있다. 麥門冬은 태음인 表寒病증의 主藥으로 주로 虛勞한데 熱性 병리가 작용하여 口乾燥渴하는 것을 다스리며 肺痿로 吐膿하는 것을 치료하고 心과 肺의 熱을 瀉하며 消渴을 해소하고 滋養의 차원에서 羸瘦短氣를 치료하는 효능이 있다³⁰. 또한, 이 등²⁶의 연구에서는 麥門冬이 천식 유발 모델에서 면역조절 작용에 효과가 있음을 입증하였다.

따라서 YJT은 태음인이 오랫동안 병을 앓거나 큰 병을 앓은 뒤에 調理를 목적으로 사용하는 처방으로 태음인의 虛勞 및 허약자, 기타 소모성 질환 등에 폭넓게 응용한다⁷.

太陰人은 肝大肺小하여 肝의 吸聚之氣가 旺盛하고 肺의 呼散之氣가 不足한 체질로 肝은 鬱熱이 생기기 쉽고, 肺는 虛寒하기 쉽다. 즉, 태음인의 노화 방지와 면역력 증강을 위해서는 偏小之臟인

肺의 기능을 도와주고 保命之主인 呼散之氣를 원활하게 유지하는데, YJT은 4가지의 肺藥으로 구성되어 補肺和肺開肺 등의 작용이 있어 태음인의 偏小之臟인 肺의 기능을 도와주고 保命之主인 呼散之氣를 원활하게 유지하는 작용이 우수하다.

사이토카인(cytokines)은 광범위한 다양한 조절 또는 비조혈세포에서 생산되는 용해성 단백질로서, 특이적인 세포수용체에 결합하여 면역세포의 활성화와 성장을 조절하여 정상 혹은 병적인 염증반응과 면역반응을 매개한다. 이들은 정상적인 선천면역과 적응면역반응에 필수적이며, 대부분의 면역, 염증성, 감염성 질환들이 이들 사이토카인에 의해 교란된다³¹.

사이토카인은 작용하는 표적세포나 기능에 따라 명명되는데, 백혈구에 주로 작용하는 경우 인터루킨(Interleukin, IL)이라고 부른다. 일반적으로 사이토카인은 세포의 활성화, 성장, 분화, 기능을 하는 세포표면 분자의 표현, 세포의 효과기능 등에 관여하는 유전자들의 활성화에 영향을 줌으로써 그 효과를 나타내며, 이러한 점에서 사이토카인은 면역반응의 조절과 다양한 질환의 병인과정에 큰 영향을 미친다. 실제로 T세포는 그들이 분비하는 사이토카인 양상에 기초하여 분류되기도 하는데, 체액성 면역반응을 유도하는 T세포를 T_H2, 세포매개성 면역반응을 유도하는 T세포를 T_H1으로 분류한다³¹.

사이토카인을 기능에 따라 분류하면, 비특이적 면역의 매개자 역할을 하는 INF- γ , IL-1, IL-6, IL-8 등과 세포의 활성화, 성장, 분화의 조절자로 작용하는 IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, TGF- β , 비특이적 염증세포의 활성화인자의 기능을 갖고 있는 INF- γ , IL-5, IL-8 그리고 미성숙 백혈구 성장과 분화의 촉진자로 작용하는 IL-3, CM-CSF 등으로 나눌 수 있다³².

IL-2는 T세포에서 분비되며, T세포, B세포, NK세포, 단핵구/대식세포에 표적세포로 작용한다³¹. 주요 기능은 세포분열을 증진시켜서 다른 사이토카인의 생산을 증가시키는 것이며, 특히 T세포의 분화를 촉진시키고 B세포가 형질세포로 발달되도록 작용한다. IL-2의 양이 면역반응의 강도를 결정하는데 주요 인자

이며, 부적당한 IL-2의 생성은 항원특이적 T세포의 무반응(anergy)을 유도할 수 있다. 또한 NK 세포의 성장을 증진시키고 LAK세포 생성에도 관여하여 세포사멸 작용을 강력하게 한다^{32,33}.

IL-4는 T세포, 비만세포, 호염구에서 분비되며, T세포, B세포, NK세포, 단핵구/대식세포, 중성구, 호산구, 내피세포, 섬유아세포에 표적세포로 작용한다. 주요 기능은 T_H2 보조 T세포의 분화와 증식을 자극하고, B세포에서 Ig의 중 전환을 자극하여 IgG1과 IgE의 생성을 유도한다. 또한, T세포와 단핵구에 대하여 항염증 작용을 나타낸다³¹.

IL-10은 단핵구/대식세포, T세포, B세포, 각질세포, 비만세포에서 분비되며, 단핵구/대식세포, T세포, B세포, NK세포, 비만세포에 표적세포로 작용한다³¹. 주요 기능은 활성화된 대식세포와 염증성 사이토카인의 생성을 억제하여 비특이적 면역반응과 세포성 면역의 항상성을 조절하는 역할을 한다. 대식세포와 수지상세포가 분비하는 IL-12와 TNF 생성을 억제하고, 대식세포의 보조 자극물질과 class II MHC 분자의 발현을 억제하여 T세포의 활성화를 저해함으로써 결국 세포성 면역을 종결시킨다. 또한 NK세포의 기능을 억제하는 반면, 비만세포의 증식과 기능 자극을 하고 B세포의 활성화와 분화를 촉진하는 작용도 있다^{31,32}.

INF- γ 는 T세포와 NK세포에서 분비되며, 모든 세포에 표적기관으로 작용하고 자연면역과 특이면역 모두에서 기능을 발휘한다^{31,33}. 증식억제와 항바이러스 작용을 갖고 있으며, 세포내 미생물과 암세포를 죽이기 위해 대식세포를 강력하게 활성화시킨다. 또한 다양한 세포에서 class I 과 class II MHC의 발현을 유도하고 B세포와 T세포의 분화를 촉진시키며, NK세포와 T세포를 강력하게 활성화하고 호중구와 내피세포를 활성화한다³².

미생물에 의한 면역반응의 효율은 각 면역세포들의 활성화 균형에 따라 결정되는 것으로, 정상적인 '건강한 면역 기능 유지'를 위해서는 면역세포의 활성화와 성장을 조절하는 사이토카인의 균형적인 항상성 유지가 매우 중요하다고 볼 수 있다³¹.

이러한 사이토카인 분석을 통하여 노화와 면역조절에 한약이 미치는 영향을 알아본 연구로는 앞서 언급한 유 등¹²의 升陽益氣湯을 활용하여 면역조절작용을 알아본 연구와 임 등¹³의 淸心蓮子湯을 활용하여 면역조절 작용을 알아본 연구 등이 있다.

유 등¹²의 연구에서는 8주령의 BALA/c계 rat에 7일간 升陽益氣湯을 경구투여한 후 면역조절 효과를 알아보기 위하여 흉선세포, 비장세포, 혈청 중에서 IL-2, IL-4, IFN- γ 를 측정된 결과, 흉선세포, 비장세포, 혈청 모두에서 IL-2와 IFN- γ 는 생리식염수를 처리한 군에 비하여 유의성 있게 증가하였으나, IL-4의 양은 변하지 않는 소견을 보여 면역기능을 향상시키는 효과가 있음을 보고하였다.

임 등¹³의 연구에서는 32주령의 SD rat에 8주간 淸心蓮子湯을 경구투여한 후 면역조절 효과를 알아보기 위하여 비장세포에서 IL-4, IL-6, IFN- γ 를 측정된 결과, IL-4와 IL-6는 32주령의 무처리군에 비하여 유의성 있게 감소하였고, IFN- γ 는 유의성 있게 증가된 소견을 보여 면역기능을 향상시키는 일정한 효과가 있음을 보고하였다.

그러나 유 등¹²의 연구에서는 8주령의 BALA/c계 rat만을 사용하였으며 임 등¹³의 연구에서는 32주령의 SD rat만을 사용한 점에서 다양한 주령별 면역기능 향상 효과 및 나이가 노화 억제 효과에 관하여 논의하기 어려울 것으로 보인다.

이에 저자는 YJT이 노화 흰쥐 비장세포의 면역 활성화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 SD rat의 비장세포를 활용하여 사이토카인 분석 실험을 하였다. ELISA 분석법으로 총 4가지의 사이토카인(IL-2, IL-4, IL-10, IFN- γ)의 함량을 측정하여 분석하였고, 이를 통하여 노화 억제와 면역 조절 작용에 대한 YJT의 유의한 효과를 입증하였기에 보고하는 바이다.

SD rat의 주령은 이전 연구들의 분석 결과를 참고하여 설정하였다. Murphy 등³⁴의 연구를 기초로 SD rat 체중 변화에 따라서 장³⁵은 평균 7주령까지를 성장기로 28주까지를 성숙기로 분류하였고, 박³⁶은 약 52주령부터 노화기에 해당한다고 분류하였다. SD rat의 체

증은 대체로 10주령에서 빠르게 성장하다 52주령부터 감소하기 시작하는데, 본 연구에서는 10주령을 면역 기능이 왕성한 “성장기”로, 52주령을 면역 노화가 시작되는 “초기 노화기”로, 72주령을 면역 노화가 심화되는 “말기 노화기”로 총 3가지 분류로 구분하여 연구를 진행하였다.

본 연구에서는 항원이나 면역 보강제 같은 자극물질 대신 T 림프구의 유사분열 물질인 Con A를 활용하여 세포 leukocyte의 면역 활성을 유도하였고, 활성 산소를 감소시키고 항산화 작용이 우수한 것으로 알려진 Vitamin C를 활용하여 YJT 증류액의 효과와 비교 분석하였다.

IL-2의 경우, NT군에서는 10주령에 비해 52주령에서 IL-2의 농도가 유의하게 높았고, 52주령에 비해 72주령에서 IL-2의 농도가 유의하게 낮았다. ConA군에서는 52주령에 비해 72주령에서 IL-2의 농도가 유의하게 낮았다. Vit.C군과 YJT군에서는 주령의 증가에 따른 IL-2의 농도의 유의한 변화가 나타나지 않았다 (Figure 1). 이것은 IL-2의 농도가 성장기에는 저하되어 있으나 초기 노화기에는 증가하고, 면역 조절 작용의 노화가 심화되는 말기 노화기에 이르러서는 다시 저하된다는 것을 의미한다.

약물처리에 따른 IL-2 농도를 비교한 결과, 10주령에서 ConA군에 비해 Vit.C군과 YJT군에서 IL-2의 농도가 유의하게 낮았으며, 52주령에서 ConA군에 비해 YJT군에서 IL-2의 농도가 유의하게 낮았다. 10주령에서 VitC군에 비해 YJT군에서 IL-2의 농도가 유의하게 낮았다 (Figure 2). 이것은 YJT이 노화에 의해 증가된 IL-2의 농도를 감소하는 작용이 있을 것으로 보이며, 그 효과는 성장기와 초기 노화기에 우수할 것으로 판단되며, 성장기에는 특히 Vit.C 보다 더 우수할 것으로 판단된다.

IL-4의 경우, NT군에서는 10주령에 비해 52주령, 72주령에서 IL-4의 농도가 유의하게 높았다. ConA군에서는 52주령에 비해 72주령에서 IL-4의 농도가 유의하게 낮았다. Vit.C군에서는 10주령에 비해 52주령에서 IL-4의 농도가 유의하게 높았고, 52주령에 비해 72

주령에서 IL-4의 농도가 유의하게 낮았다. YJT군에서는 주령의 증가에 따른 IL-4의 농도의 유의한 변화가 나타나지 않았다(Figure 3). 이것은 IL-4의 농도가 성장기에는 저하되어 있으나 초기 노화기, 말기 노화기에는 증가한다는 것을 의미한다.

약물처리에 따른 IL-4 농도를 비교한 결과, 10주령에서 ConA군에 비해 Vit.C군과 YJT군에서 IL-4의 농도가 유의하게 낮았으며, 52주령에서 ConA군에 비해 YJT군에서 IL-4의 농도가 유의하게 낮았다 (Figure 4). 이것은 YJT이 노화에 의해 증가된 IL-4의 농도를 감소하는 작용이 있을 것으로 보이며, 그 효과는 성장기와 초기 노화기에 우수할 것으로 판단된다.

IL-10의 경우, NT군과 Vit.C군에서는 주령의 증가에 따른 IL-10의 농도의 유의한 변화가 나타나지 않았다. ConA군에서는 10주령에 비해 52주령, 72주령에서 IL-10의 농도가 유의하게 낮았다. YJT군에서는 10주령에 비해 72주령에서 IL-10의 농도가 유의하게 높았다 (Figure 5).

약물처리에 따른 IL-10 농도를 비교한 결과, 10주령에서 ConA군에 비해 Vit.C군과 YJT군에서 IL-10의 농도가 유의하게 낮았으며, 72주령에서 ConA군에 비해 Vit.C군에서 IL-10의 농도가 유의하게 낮았다 (Figure 6). 이것은 YJT가 노화에 의해 증가된 IL-10의 농도를 감소하는 작용이 있을 것으로 보이며, 그 효과는 성장기에 우수할 것으로 판단된다.

INF- γ 의 경우, NT군에서는 10주령에 비해 52주령, 72주령에서 INF- γ 의 농도가 유의하게 높았다. ConA군에서는 10주령에 비해 52주령, 72주령에서 INF- γ 의 농도가 유의하게 낮았다. Vit.C군에서는 10주령에 비해 52주령, 72주령에서 INF- γ 의 농도가 유의하게 낮았으며, 52주령에 비해 72주령에서 INF- γ 의 농도가 유의하게 낮았다. YJT군에서는 10주령에 비해 72주령의 INF- γ 의 농도가 유의하게 낮았다 (Figure 7). 이것은 INF- γ 의 농도가 성장기에는 저하되어 있으나 초기 노화기, 말기 노화기에는 증가한다는 것을 의미한다. 이러한 경향성이 Vit.C와 YJT에 의하여 억제되고, 결과적으로 YJT가 INF- γ 의 농도가 높아지는 말기 노화기

에 IFN- γ 의 농도를 감소하여 균형적으로 IFN- γ 의 농도를 조절하는 작용이 있음을 알 수 있다.

약물처리에 따른 IFN- γ 농도를 비교한 결과, 10주령에서 ConA군과 Vit.C군에 비해 YJT군에서 IFN- γ 의 농도가 유의하게 낮았다(Figure 8). 이것은 YJT가 노화에 의해 증가된 IFN- γ 의 농도를 감소하는 작용이 있을 것으로 보이며, 그 효과는 성장기에 Vit.C 보다 더 우수할 것으로 판단된다.

이상의 연구 결과를 종합해보면 다음과 같다.

YJT는 IL-2, IL-4, IL-10, IFN- γ 4종류의 사이토카인에 대하여 모두 성장기에 해당하는 10주령에서 농도 감소 효과가 있었으며, IL-2와 IFN- γ 에서는 Vit.C 보다 그 효과가 뛰어났다. 초기 노화기에 해당하는 52주령에서는 IL-2, IL-4의 농도 감소 효과가 있었으며, 말기 노화기에 해당하는 72주령에서는 IFN- γ 의 농도 감소 효과가 있었다.

따라서 아토피 피부염, 알레르기성 비염, 천식과 같이 사이토카인의 과다 생성에 의한 면역 과잉 현상인 알레르기 질환에 YJT를 효과적으로 활용할 수 있을 것으로 예상된다. 나아가 정상적인 면역 조절 기능에 장애가 생겨 면역 세포가 인체의 정상 세포를 이물 질로 인식하여 공격하는 자가면역질환에도 YJT가 효과가 있을 것으로 생각된다. 또한 노화가 진행함에 따라 면역 인식 장애로 인하여 자가 항체의 생산이 증가하고 자신 몸의 세포 조직을 스스로 파괴하여 노화가 진행된다는 노화이론 중의 면역학설에 따라 노화를 지연시키고 억제하는 항노화의 효과도 기대할 수 있을 것이다.

본 연구에서 YJT는 노화 흰쥐의 비장세포에서 활성화된 사이토카인의 농도를 감소하는 효과가 있었으며, 특히 이와 같은 YJT의 작용에 의하여 과잉된 면역 반응을 억제하여 면역 불균형을 개선하는 면역 조절 작용이 있음이 확인되었다. 하지만 본 연구는 SD rat의 비장세포만을 추출하여 면역 활성을 일으키기 위하여 ConA를 통한 약물 처리에 의한 변화를 분석하였으며, 당전환 당전액과 증류한 증류액의 성분이 달라질 수 있음에 관한 성분 검사가 이루어지지 않았다는 등의

한계점이 있으므로, 본 실험을 기초 연구로 하여 차후 임상을 위하여 심도 있는 연구가 더 필요할 것으로 보인다.

실제 임상에서 노화 방지와 균형적인 면역 조절을 위한 YJT의 다양한 활용을 위하여 지속적인 추가 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 結 論

YJT가 노화 흰쥐 비장세포의 면역 활성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 10주령, 52주령 및 72주령의 SD rat의 비장세포에서 leukocyte만을 추출하고, 사이토카인 중 IL-2, IL-4, IL-10, IFN- γ 의 함량을 측정하여 각각의 실험군을 비교·분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 52주령의 흰쥐의 비장세포에서 IL-2와 IL-4의 농도는 YJT군에서 ConA군에 비해 유의하게 감소하였다.
2. 72주령의 흰쥐의 비장세포에서 IFN- γ 의 농도는 NT군에서는 10주령에 비해 유의하게 증가하지만, YJT군에서는 10주령에 비해 유의하게 감소하였다.

VI. 參 考 文 獻

1. National Statistical Office. 2012 The aged statistics. URL: <http://kostat.go.kr/>
2. Son JR. Oxygen free radical & Antioxidant. Seoul: Biomedical. 2004;70-77,130.
3. Harman D. The Free Radical Theory of Aging. Antioxidants & Redox Signaling. 2003;5(5):557-561.
4. Cheon JS. Concept of Ageing. Journal of the Korean Society of Biological Therapies in Psychiatry. 2007; 13(2):129-137. (Korean)
5. Koo BS. Anti-aging Medicine. Seoul:Korea Medical Book. 2003;37-44.
6. Kim KH. Preventive Oriental Medicine. Seoul: Seowondang.

- 2002:405-480.
7. National federation of department of sasang constitutional medicine, colleges of oriental medicine. Sasang constitutional medicine 2nd Ed. Seoul:Jipmoondang. 2004.
 8. Choi BC, Ahn TW. Anti-Oxidant Effect of Hyangsayangyitang Decoction in Stomach, Spleen and Pancreas Cell of SD Rats. *J Sasang Constitut Med.* 2008;20(2):72-84. (Korean)
 9. Lee HE, Ahn TW. Anti-Oxidant Effect of Hyeongbangjiwhang-tang Decoction in Kidney, Bladder and Spleen cell of SD Rats. *J Sasang Constitut Med.* 2008;20(2):85-97. (Korean)
 10. Lee SY, Ahn TW. Anti-aging Effect of Tae-Eumin's Nocyongdaebo-tang(NYD) in Aged Rats. *J Sasang Constitut Medicine.* 2008;20(2):58-71. (Korean)
 11. Sun TC, Ahn TW. Anti-aging Effect of Sipyimigwanjung-tang in Aged Rats. *J Sasang Constitut Medicine.* 2008;20(2):98-110. (Korean)
 12. Ryu CR, Song JM. Immunoregulatory Action Soeumin Seungyangikkitang. *J Sasang Constitut Med.* 2001; 13(3):102-113. (Korean)
 13. Lim JP, Ahn TW. The Anti-Oxidant and Immune-regulatory Effect of Chungsimyeonja-tang in Aged Rat. *J Sasang Constitut Med.* 2007;19(3):227-241. (Korean)
 14. Won JS. Dongyisangsinpyeon. Seoul:Jeongdam. 2002:232.
 15. Choi JH. The Aging Mechanism and Research Direction. *The Journal of Korea Biochemistry.* 1985; 5(3):39-53. (Korean)
 16. Choi YH. The elderly and health. Seoul:Hyunmoonsa. 2000:4-5,38-45.
 17. Lim IS. The Approach of Antioxidant, Endocrine, & Immune System on Exercise & Aging. *Exercise Science.* 2002;11(1):35-51. (Korean)
 18. Kim YD. The newest Immunity. Seoul:Jipmoondang. 1982:33.
 19. Lim EM, Lee SH. Oriental Medicine looked at the concept of immune. *The Journal of the Korea Institute of Oriental Medical Informatics.* 2006;12(1):129-145. (Korean)
 20. Kim DH, Lee JH. The Yellow Emperor's Classic of Internal Medicine So Moon. Seoul:Euisungdang. 2001.
 21. Yoo JH, Lee EJ, Song IB, Ko BH. A Study of Aging and Life Span in Sasang Constitutional Medicine. *J Sasang Constitut Med.* 2002;14(3):7-16. (Korean)
 22. Ahn BS, Lee BR, Yim YK. Immune response improvement induced by Herbal-acupuncture with Aucklandia Radix infusion solution into Zusanli(ST36). *The Korean Journal of Meridian & Acupoint.* 2003;20(3):101-114. (Korean)
 23. Park GH, Lee BR, Yim YK. Influence on the Anti-cancer and Immune response improvement of Herbal-acupuncture with Evodiae Fructus infusion solution into Zusanli(ST36). *The Korean Journal of Meridian & Acupoint.* 2003;20(3):115-128. (Korean)
 24. Lee HJ, Shin HC, Jin SH, Son YS, Yun DH, Lim S. Differential Modulation of ST36 Stimulation on Interleukin-6-Induced Changes of Afferent Somatosensory Transmission to the SI Cortex of Rats. *The Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion.* 2000;17(4):41-50. (Korean)
 25. Lee JS, Yim YK, Kim YI. A Study on Anti-aging of Electroacupuncture at Joksamni(ST36) in Rats. *The Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion.* 2007; 24(3):145-161. (Korean)
 26. Lee DS, Jung HJ, Rhee HK, Jung SK. The Effects of Liriopsis Tuber and Schizandrae Fructus on IL-4, IL-5 and IL-6 in Asthma Model. *K. H. M.* 2000;16(2): 170-181. (Korean)
 27. Han HS, Park WS, Lee YJ. Studies in the Immuno Modulation Activity of Fermented Artemisiae Argyi Folium Extract. *Kro. J. Herbology.* 2008;23(3):103-112. (Korean)
 28. Song JS, Shin SM, Kim SM, Kim EI, Lee JE, Yoo DY. Effect of Kamibojoongikkitang in Immune Response

- in C57BL/6 Mice. The Journal of Oriental Obstetrics & Gynecology. 2006;19(4):1-16. (Korean)
29. Kim GS, Kim DG. Effect of Dangkwiyughwangtang and Okbyoungpoongsangamibang on the immune response induced by Methotrexate in mice. J Korean Oriental Pediatrics. 2007;21(1):189-209. (Korean)
30. Joint Textbook Compilation Committee, colleges of oriental medicine. Herbology. Seoul:Yeongrimsa. 2005: 534,641,647,720.
31. Kasper, Braunwald, Fauci, Hauser, Longo, Jameson. Harrison's Internal Medicine. 1st Ed. Seoul:MIP Publishers. 2006:2079-2107.
32. Pyo SN, Son EH. Introduction to Immunology. Seoul: Shinil Books. 2008:152-158.
33. Gang TS, Kim SH, Kim YH, Kim YG, Kim YH, Kim YH et al. Clinical Immunology. Seoul:Chenggu Cultural Publishers. 2005:225-231.
34. Murphy MP, Rick J Th, Milgram NW, Ivy GO. A simple and rapid test of sensorimotor function in the aged rat. Neurobiology of Learning and Memory. 1995;64:181-186.
35. Jang EC, Youn WK, Lee SK. Effect of Age on Glucose Metabolism of Skeletal Muscle in Rats. Yeungnam Univ. J. of Med. 2001;18(1):94-100. (Korean)
36. Park SK, Lee HJ, Kim HT, Whang WW. An experimental study of oriental medicine on cure for dementia : the effect of Jowiseungcheongtang and Hyungbang jihwangtang on cure for aged rats. J. of Oriental Neuropsychiatry. 1998;9(2):19-35. (Korean)