

補中益氣湯加味方の 면역기능 증진 효과

이상훈 · 이승언 · 이시형^{1*} · 신조영

원광대학교 한의과대학 폐계내과학교실, 1:원광대학교 한의학전문대학원

Immune Function-enhancing Effects of *Bojungikkittanggami-bang*

Sang Hun Lee, Seung Eon Lee, Si Hyeong Lee^{1*}, Jo Young Shin

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine Wonkwang University,
1: Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University

The immune system acts to protect the host from infectious agents that exist in the environment and from other noxious insults. The immune system has two functional divisions: the innate and the acquired. Both components involve various factors such as cytokines. A number of methodologies exist to assess aspects of immune function. There are large inter-individual variations in many immune functions even among the healthy. Genetics, age, gender, smoking habits, habitual levels of exercise, alcohol consumption, diet, stage in the female menstrual cycle, stress, history of infections and vaccinations, and early life experiences are likely to be important contributors to the observed variation. While it is clear that individuals with immune responses significantly below 'normal' are more susceptible to infectious agents and exhibit increased infectious morbidity and mortality, it is not clear how the variation in immune function among healthy individuals relates to variation in susceptibility to infection. Oriental medicine is an important factor contributing to immune competence. The author investigated the immune enhancement effects of *Bojungikkittanggami-bang* (BITB). The forced swimming test (FST) has been used as a screening model for new immune enhancement agents. In the present study, the author investigated the effects of BITB on FST and blood biochemical parameters related to fatigue, glucose (Glc); blood urea nitrogen (BUN); lactate dehydrogenase (LDH); creatinine; and total protein (TP). The author found that BITB (1g/kg) significantly reduced the immobility time in the FST compared to the control. In addition, the contents of Glc, LDH, BUN, TP in the blood serum were increased in BITB (1g/kg)-fed group. Also, the author investigated the effects of BITB on the production of cytokines in human T-cell line, MOLT-4 cells. BITB (1mg/ml) significantly increased the interferon (IFN)- γ production compared with media control (about 2.2-fold for IFN- γ) at 24 h. However, BITB has not affect the production of IL-2 and IL-4. In addition, BITB increased the protein expression level of IFN- γ in MOLT-4 cells. Thus, BITB may have therapeutic value in generating or enhancing immune function in a clinical setting.

Key words : *Bojungikkittanggami-bang*(補中益氣湯加味方), IL-2 and IL-4, MOLT-4 cells, glucose

서론

免疫이란 원래 疫病을免한다고 하는 의미이며, 똑같은 감염 증에 재차 걸리지 않는다고 하는 경험적인 사실을 나타내는 개념이었다. 그러나 免疫이란 용어는 그 후 보다 광범위하게 사용되어 기생체에 대한 숙주의 일반적인 저항성을 나타내는 것 뿐만

아니라 더 나아가 생명체의 내부에서 발생하는 新生物을 배제하는 일련의 작용까지도 내포하고 있다¹⁻³⁾. 韓醫學에서 免疫의 개념을 正氣로 볼 수 있는데 疾病의 發生과 進行 및 轉歸를 正氣와 邪氣의 消長進退로 파악하였다. 正氣란 元氣, 原氣, 眞氣 라고도 指稱되며 六淫 外에 七情, 痰飲, 勞倦, 瘀血 등의 人體內外의 各種 發病因子인 邪氣에 對항하는 人體의 抗病力을 뜻하는 것이다⁴⁻⁶⁾.

補中益氣湯은 李東垣의 創方으로 東垣十書中 <內外傷辨惑論> 및 <脾胃論>에 처음 수록된 처방으로⁷⁾ 勞役太甚이나 飲食失節로 인한 中氣不足 혹은 中氣下陷의 病理狀態로 유발되는 慢性,

* 교신저자 : 이시형, 전북 익산시 신용동 344-2, 원광대학교 익산한방병원

· E-mail : beginstar@dreamwiz.com, Tel : 063-850-2106

· 접수 : 2004/02/04 · 수정 : 2004/03/16 · 채택 : 2004/04/02

虛弱性, 老人性 疾患의 諸症狀에 활용되고 있다⁸⁻¹²⁾. 補中益氣湯에 관한 많은 실험적 연구들이 보고되었으나¹³⁻¹⁶⁾ 운동부하 후 혈장내 피로와 관련된 성분의 수치비교와 면역세포 활성물질에 대한 연구는 없었다. 이에 저자는 補氣의 대표적인 處方인 補中益氣湯에 補劑에 加味하는 川芎, 防風, 荊芥, 蘇葉, 柴胡, 薄荷를 加하여 면역기능 회복에 미치는 영향에 관한 實驗을 시행하였다.

T 세포는 세포독성 T 세포 (cytotoxic T cell, Tc cells)와 보조 T 세포 (helper T cell, Th cells)로 나뉘며, Tc 세포는 항원 의존적으로 활성화된 Th 세포 등의 영향을 받아 바이러스를 제거하는 역할 등을 하며, Th 세포는 항원제공과 세포성 및 체액성 면역 반응을 매개한다¹⁷⁾. 세포활성물질은 면역 반응을 조절하는 매우 중요한 역할을 하며^{18,19)}, 세포활성물질 (cytokine)은 크게 IL-2, IFN- γ 등을 분비하는 Th1형 세포활성물질과 IL-4, IL-5 등을 분비하는 Th2 세포활성물질로 구분할 수 있다. Th1형 세포활성물질은 주로 세포 매개성 면역 반응과 지연형 과민반응을 촉진하며^{20,21)}, Th1형 세포활성물질인 IFN- γ 는 IgM을 IgG2a, IgG3로 전환 되도록 유도하고 Th2형 세포활성물질인 IL-4는 체액성 면역반응을 촉진시킨다. IFN- γ , IL-2, IL-4, TNF- α 와 같은 다양한 세포활성물질은 직·간접적으로 면역반응과 연관되어 있다. 한편 대식세포는 배 발생동안 조직의 재생, 상처 치유 기능은 물론 활성화된 대식세포는 암세포를 인식하여 사멸시키는 기능을 갖고 있다²²⁾.

본 연구에서는 補中益氣湯加味方の 면역기능 증진 효과를 알아보기 위해 補中益氣湯加味方を 투여한 실험군과 생리식염수를 투여한 대조군을 구분하여 강제 수영 부하 실험 (forced swimming test, FST)^{23,24)} 및 피로와 관련된 혈장 내 Glucose, Blood Urea Nitrogen(BUN), Creatinine, Lactate Dehydrogenase(LDH), Total Protein(TP)의 함량의 변화를 측정하여 FST 후에 발생하는 생체내의 변화와 인간 T세포에서 세포활성물질(IFN- γ , IL-2, IL-4)의 생성, 변화를 관찰하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 재료 및 시약

Avidin-peroxidase, Thioglycolate, 2'-AZINO-bis (3-ethylbenzothiazolone-6-sulfonic acid) substrate는 Sigma (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며, RPMI 1640, ampicillin, streptomycin과 fetal bovine serum (FBS)은 Gibco BRL (Grand Island, NY, USA)에서 구입하였다. Anti-human IL-4, IFN- γ biotinylated anti-human IL-4, IFN- γ and recombinant (r) human IL-4, IFN- γ 는 R&D Systems (Minneapolis, MN, USA)에서 구입하였고, 기기로는 VERSA max™ Tunable Microplate Reader (Sunnyvale, California)를 사용하였다.

2) 실험동물

Wister계 흰쥐와 ICR계 생쥐 수컷은 대한실험동물센터(대전)에서 구입하였으며, 동물실내의 명암은 12시간으로 자동 조절하였고, 물과 사료를 자유롭게 섭취하도록 하였다.

3) 약재

실험에 사용한 약재는 Table 1에 나타낸 바와 같이 13가지 약재로 구성된 처방이며, 원광대학교 한의과대학 부속 익산한방병원에서 구입하였다. 補中益氣湯加味方の 구성약물과 용량은 <東醫寶鑑>⁸⁾과 <病因論>⁹⁾에 수록된 내용에 준하였으며, 증류수로 전탕한 다음 0.45 μ m 필터로 여과하여 4℃에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

Table 1. Prescription of Bojungkitangami-bang

藥名	生藥名	量(g)
黃芪	Radix Astragali	6.0
人蔘	Radix Ginseng	4.0
白朮	Rhizoma Atractylodis Macrocephalae	4.0
甘草	Radix Glycyrrhizae	4.0
當歸	Radix Angelicae Sinensis	2.0
陳皮	Pericarpium Citri Reticulatae	2.0
升麻	Rhizoma Cimicifugae	1.2
柴胡	Radix Bupleuri	2.4
川芎	Rhizoma Chuanxiong	4.0
防風	Radix Saposhnikoviae	4.0
荊芥	Herba Schizonepetae	4.0
蘇葉	Folium Perillae	4.0
薄荷	Herba Menthae	4.0
Total amount		45.6 g

2. 방법

1) 강제 수영 부하 실험 (Forced swimming test, FST)

10-12g의 ICR계 생쥐를 실험군 별로 5마리씩 사용하였다. 체중(kg)당 대조군에 생리식염수, 실험군에 補中益氣湯加味方 1g을 생쥐에 경구투여하고 2일, 7일 후 생쥐를 높이 25cm, 둘레 10cm, 온도 23~25℃, 물이 10cm 가량 들어있는 원형 실린더에 강제로 빠뜨려서 6분 동안 관찰하였다. 생쥐가 물 위에 머리를 내린후 움직임이 없고, 위쪽을 향해 떠있을 때를 부동시간으로 하였다. 6분 중 2분이 경과 한 후 4분 동안을 부동시간으로 기록하였다.

2) 혈장 분리 및 혈장성분 함량 측정

補中益氣湯加味方を 7일 동안 경구투여하고 ether로 마취시킨 다음, 심장에서 채혈한 후 3000rpm에서 15분간 냉장원심분리기로 원심분리하여 혈장을 얻었다. 혈장내 피로와 관련이 있는 glucose, BUN, creatinine, LDH, TP 등을 측정하였다.

3) MOLT-4 세포배양

인간 T 세포주인 MOLT-4 세포는 10% FBS와 1% /ampicillin, streptomycin이 첨가된 RPMI 1640에서 37℃, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다.

4) Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

IFN- γ , IL-2, IL-4의 측정은 Scuderi 등²⁵⁾이 기술한 방법에 준하여 약간 변형된 ELISA 방법으로 실시하였다. 즉 anti-human IFN- γ , IL-2, IL-4 capture 단클론 항체를 96-well plate 에 1 μ g/ml로 코팅하고 4℃에서 12시간 방치하였다. 코팅 후 비특이적 결합부위를 막기 위하여 2% bovine serum albumin (BSA)를 함유한 phosphate-buffered saline (PBS)로 구성된 blocking buffer를 첨가하여 37℃에서 2시간 동안 방치하였다.

다. 다시 0.05% tween 20 을 함유한 PBS로 4회 세척 후 재조합 사람 IFN- γ , IL-2, IL-4 표준액과 각 검체의 배양 상등액을 각 well 에 100 μ l씩 부가하여 37 $^{\circ}$ C에서 2시간 동안 방치하였다. 다시 0.05% tween 20을 함유한 PBS로 4회 세척 후 biotinylated anti-human IFN- γ , IL-2, IL-4는 1% BSA를 함유한 PBS를 이용하여 0.05 μ g/ml 농도로 희석한 후 well에 처리하여 37 $^{\circ}$ C에서 2시간 동안 방치하였다. 다시 washing buffer로 7회 세척한 후 avidin-conjugated enzyme 을 2.5 μ g/ml 농도로 각 well에 처리한 다음 37 $^{\circ}$ C에서 30분 방치한 후 7회 세척하였다. ABTS 기질액을 각 well 에 100 μ l씩 가하여 10 분간 발색을 유도한 다음 ELISA reader를 이용하여 405 nm 파장에서 IFN- γ , IL-2, IL-4의 양을 측정하였다.

5) 통계학적 처리

실험결과는 mean \pm SEM으로 표시하였으며, 강제수영부하에서 補中益氣湯加味方의 효과는 independent t-test를 실시하여 유의성을 검증하였다.

실험성적

1. 강제 수영 부하 실험에 있어서 補中益氣湯加味方의 항부동효과 생리식염수를 경구 투여한 대조군과 補中益氣湯加味方을 7일 동안 투여한 실험군을 비교한 결과 2일 후의 부동시간은 대조군의 경우 138.2 \pm 13.5초, 補中益氣湯加味方 0.01 g/kg 투여군의 경우 158.4 \pm 10.2초, 補中益氣湯加味方 0.1 g/kg 투여군의 경우 150.0 \pm 17.4초, 補中益氣湯加味方 1 g/kg 투여군의 경우 158.3 \pm 7.7초로 나타났다. 7일 후의 부동시간은 대조군의 경우 134.4 \pm 29.7 초, 補中益氣湯加味方 0.01 g/kg 투여군의 경우 165.0 \pm 18.9초, 補中益氣湯加味方 0.1 g/kg 투여군의 경우 172.0 \pm 23.8초, 補中益氣湯加味方 1 g/kg 투여군의 경우 96.2 \pm 22.8초로 나타났다 (Fig. 1).

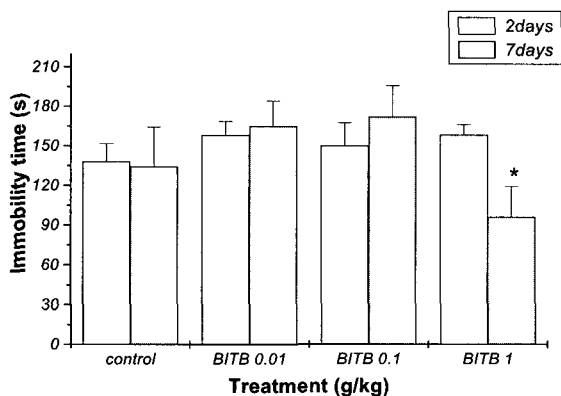


Fig. 1. Effects of BITB on forced swimming test. Immobility time recorded during 6 min in the FST in mouse given saline or BITB. Values are the mean \pm S.E.M. of duplicate determinations from five separate experiments (*P < 0.05).

증류수와 補中益氣湯加味方을 7일 동안 투여한 후 혈장 내 피로물질과 관련된 성분의 변화를 관찰하기 위하여 glucose, LDH, BUN, creatinine, TP의 함량 변화를 비교하였다. 혈장중 glucose 함량은 대조군은 366.3 \pm 9.4 mg/dl, 補中益氣湯加味方

0.01 g/kg 투여군의 경우 338.0 \pm 11 mg/dl, 補中益氣湯加味方 0.1 g/kg 투여군의 경우 321.5 \pm 12.5 mg/dl, 補中益氣湯加味方 1 g/kg 투여군의 경우 410.3 \pm 39.8 mg/dl 이었다. LDH는 대조군은 904.3 \pm 135 U/L, 補中益氣湯加味方 0.01, 0.1, 1g/kg 투여군 각각 830 \pm 80, 1035 \pm 255, 1126 \pm 255 U/L이었고, creatinine은 대조군과 유의성 있는 차이가 없었다. BUN은 대조군은 18.2 \pm 1.0 mg/dl로 補中益氣湯加味方 0.01, 0.1, 1g/kg 각각 19.0 \pm 0.4, 21.8 \pm 2.4, 18.8 \pm 0.8 mg/dl로 증가하였다. 혈장 내 TP의 함량 변화는 대조군(4.8 \pm 0.1 g/dL)에 비해 補中益氣湯加味方 0.01, 0.1, 1 g/kg (각각 5.4 \pm 0.1, 5.3 \pm 0.2, 5.3 \pm 0.1 g/dl) 투여군 모두 약간 증가하였다(Table 2).

Table 2. Changes of anti-fatigue factors in mice blood after 7 days oral administration

	Saline (1 g/kg/day)	BITB (0.01 g/kg/day)	BITB (0.1 g/kg/day)	BITB (1 g/kg/day)
Glc (mg/dl)	366.3 \pm 9.4	338.0 \pm 11	321.5 \pm 12.5*	410.3 \pm 39.8
LDH (U/L)	904.3 \pm 135	830 \pm 80	1035 \pm 255	1126 \pm 255
BUN (mg/dl)	18.2 \pm 1.0	19.0 \pm 0.4	21.8 \pm 2.4	18.8 \pm 0.8
TP (g/dl)	4.8 \pm 0.1	5.4 \pm 0.1	5.3 \pm 0.2	5.3 \pm 0.1*

Values are the mean \pm S.E.M. of duplicate determinations from five separate experiments (*P < 0.05).

2. T 세포에서 IFN- γ 와 IL-2, IL-4의 생성에 있어서 補中益氣湯加味方의 효과

세포성 면역반응과 관련한 Th 1 형 세포활성물질인 IFN- γ 와 IL-2, 그리고 체액성 면역반응과 밀접한 Th 2 형 세포활성물질인 IL-4의 생성에 있어서 補中益氣湯加味方의 효과를 관찰하기 위하여 0.01-1 mg/ml의 농도로 처리하고 24시간 배양한 후 상층액에서 IFN- γ , IL-2와 IL-4의 양을 ELISA 방법으로 측정하였다. IFN- γ 의 생성은 Fig. 2에서 나타난 것처럼 대조군 (0.44 ng/ml) 비해 補中益氣湯加味方 투여군에서 모두 증가하였으며, 특히 補中益氣湯加味方 1 mg/ml (0.98 ng/ml)에서 2.2배의 증가를 나타내었다.

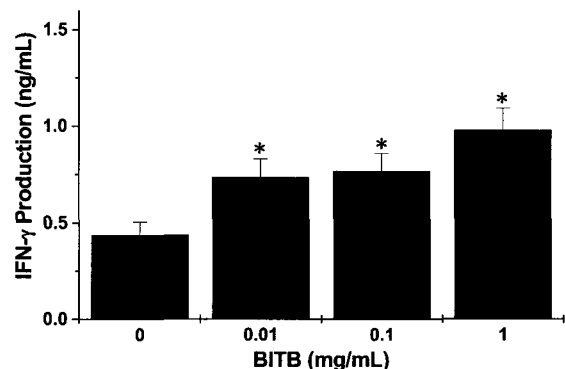


Fig. 2. Effects of BITB on IFN- γ production in the MOLT-4 cells. Culture supernatant was collected from none or BITB treated MOLT-4 cells, which were cultured for 24 h. IFN- γ levels in culture supernatant was measured using ELISA. Values are the mean \pm S.E.M. of duplicate determinations from six separate experiments (*P < 0.05).

그러나 Fig. 3, 4에서 나타난 바와 같이 IL-2와 IL-4의 생성에 있어서는 유의성 있는 변화가 관찰되지 않았다.

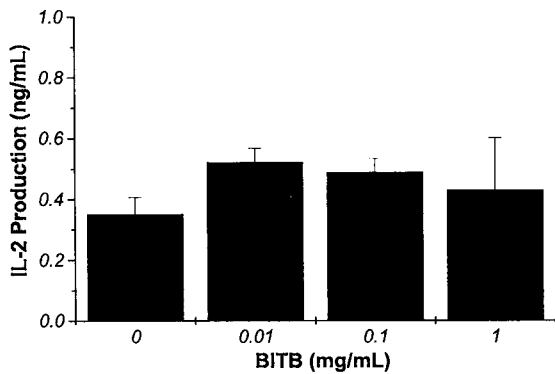


Fig. 3. Effects of BITB on IL-2 production in the MOLT-4 cells. Culture supernatant was collected from none or BITB treated MOLT-4 cells, which were cultured for 24 h. IL-2 levels in culture supernatant was measured using ELISA. Values are the mean \pm S.E.M. of duplicate determinations from six separate experiments.

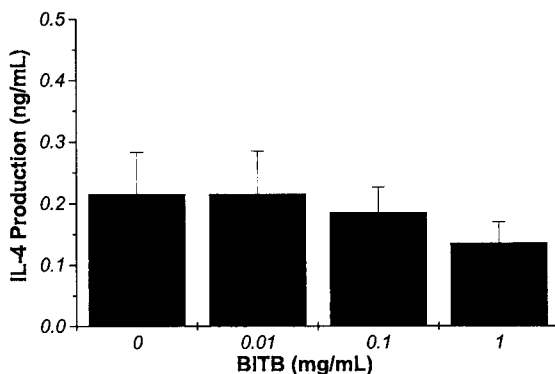


Fig. 4. Effects of BITB on IL-4 production in the MOLT-4 cells. Culture supernatant was collected from none or BITB treated MOLT-4 cells, which were cultured for 24h. IL-4 levels in culture supernatant was measured using ELISA. *P<0.05; significantly different from the 24h saline value. Values are the mean \pm S.E.M. of duplicate determinations from six separate experiments.

3. INF- γ 의 발현에 있어서 補中益氣湯加味方の 효과

補中益氣湯加味方이 중요한 면역 증강 지표인 INF- γ 의 발현에 미치는 영향을 알아보기 위하여 T 세포에서 분석하였다. 補中益氣湯加味方を 0.01-1 mg/ml 의 농도로 처리한 후 24시간 배양하여 Western blotting을 수행한 결과, INF- γ 단백질 발현은 대조군에 비하여 補中益氣湯加味方 처리군에서 모두 증가를 나타내었다. 이 결과는 Fig. 2.에 나타난 INF- γ 단백질 생성의 결과와 상관성이 있음을 알 수 있다 (Fig. 5).

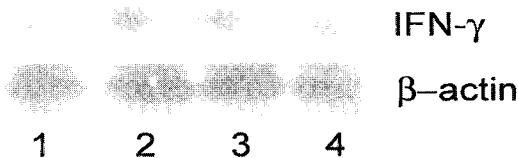


Fig. 5. Effects of IFN- γ protein expression by BITB in MOLT-4 cells. The protein extracts were prepared and samples were analyzed for IFN- γ expression by Western blotting as described in the method. Lane 1, saline; 2, BITB 1 mg/ml; 3, BITB 0.1 mg/ml 4, BITB 0.01 mg/ml

고찰

免疫은 기생체에 대한 숙주의 일반적인 저항성을 나타내는

말로 그 기본적인 작용은 '비자기'로부터 자기를 방어하여 생명영위를 하는 것이다. 여기서 '비자기'란 외부로부터 침입하는 미생물, 동종의 조직이나 체내에서 생긴 불필요한 산물 등을 말한다. 그러므로 면역반응이란 비자기를 항원으로 인식하고 특이하게 항체를 생산하여 이에 대처, 처리하는 연쇄적인 반응이라 할 수 있다^{1,3)}. 면역기능에 장애가 오면 질병이 발생하는데 면역 장애 원인에 따라 선천적인 것과 후천적인 것이 있다. 선천성 면역기능 장애는 대부분 유전적인 결함에 의해 발생하며 후천적으로 면역기능에 장애가 오는 원인에는 영양실조, 면역억제 약물, 말기암, 방사선 조사, 노화, 피로, 또는 면역세포의 HIV감염 등이 있다^{1,2,26)}.

한의학에서 인체는 정상생리 하에서 체내의 陰陽, 氣血, 臟腑, 經絡이 모두 相互依存, 相互制約의 상대적인 平衡狀態에 있으며, 이러한 상대적인 평형상태가 파괴될 때 疾病이 發病하고, 그 發病과 변화는 正氣와 邪氣의 消長進退로 歸納시킬 수 있다^{4,6)}. 이러한 正氣에 대하여 <黃帝內經>에서 " 眞氣從之 精神內守 病安從來 ", " 正氣存內 邪不可干 " 라 하여 만일 正氣가 旺盛하면 邪氣가 侵入하지 못하고 正氣가 虛弱하면 邪氣가 侵入하여 正氣虛弱이 疾病發生의 중요한 원인이 된다고 하였다^{4,27)}. 이같은 개념이 西洋醫學의 면역기능과 유사하다고 볼 수 있다.

補中益氣湯은 <東醫寶鑑>에 勞役이 太甚하고 또는 飲食을 調節하지 못하여 몸이 煩熱하고 自汗이 있으며 倦怠한 症이 있을 때 사용하는 處方이다. 더 나아가 內傷門을 살펴보면 內傷에 外感을 끼고 있으면 補中益氣湯에 季節別로 藥劑들을 加味하라고 되어 있는데⁸⁾ 이는 內傷으로 인하여 正氣가 虛해진 틈을 타 邪氣인 外感에 감촉되어 疾病이 나타난 경우를 말하는 것으로 볼 수 있다. 補中益氣湯에 관한 실험적 연구를 살펴보면 金¹³⁾은 疲勞恢復效果를 李¹⁴⁾는 陽虛證에 대한 효과, 尹¹⁵⁾은 摘出子宮, 腸 및 혈관의 수축효과를, 閔¹⁶⁾의 放射線 照射後 免疫機能 恢復 효과 등이 보고되었다. 이에 저자는 補中益氣湯에 芩芎에 加味하는 川芎, 防風, 荊芥, 蘇葉, 柴胡, 薄荷를 加한 補中益氣湯加味方を 투여하여 운동부하 후 혈장내 피로물질의 함량비교와 면역세포 활성물질에 대한 연구를 시행하였다.

본 연구에서는 補中益氣湯加味方を 투여한 군과 생리식염수를 투여한 대조군을 구분하여 강제 수영 부하 실험 (forced swimming test, FST)^{23,24)} 및 피로와 관련된 혈장 내 glucose, BUN, creatinine, LDH, TP의 함량을 측정하여 FST 후 발생하는 생체 내의 변화 및 인간 T 세포주인 MOLT-4 세포로부터 분비되는 INF- γ , IL-2, IL-4의 생성변화를 관찰하여 면역기능 증진 효과를 분석하고자 하였다.

면역기능 증진 생체내 실험 모델로 FST를 수행하였으며, 실험 중 관찰되는 부동자세를 지구력 저하에 의한 행동의 자포자기로 판단하였다^{23,28)}. 또한 이 때 補中益氣湯加味方 투여에 의한 혈장내 피로 물질 등의 함량 비교를 통해 면역 증강 효과를 간접적으로 분석하였다. 운동피로에 의한 생체내의 반응은 다양하게 나타나지만 일반적으로 이를 객관적으로 측정하는 방법은 혈장내의 glucose 양과 당대사 시에 작용하는 것으로 알려져 있는 LDH를 측정하게 되면 대사정도를 파악할 수 있고 이의 혈중내의 함량으로 피로정도도 측정할 수 있다. 또한 최종산물과 관련된

되어 이를 배설하기 위한 각종 효소 중 BUN과 creatinine의 측정
은 피로에 대한 간접적인 증명자료로도 이용되고 있다. 또한 모
든 효소의 재원인 단백질은 운동 시 큰 변화를 보이지 않는 것으
로 되어 있지만 약간의 변동이 있는 것으로 알려져 있다²⁹⁾. 본 실
험에서는 일반적으로 피로 물질과 관련되고 있는 혈장 내
glucose, BUN, creatinine, LDH, TP의 함량을 측정하여 補中益氣
湯加味方을 투여한 군과 생리식염수를 투여한 군을 구분하여 강
제 수영 부하 후 발생하는 생체 내의 변화를 관찰하였다. 운동성
에 관한 실험은 생쥐에 7일 동안 補中益氣湯加味方을 경구투여
한 후 강제수영부하를 시켰을 때 2일째, 7일째 부동시간을 측정
한 결과, 대조군에 비해 補中益氣湯加味方을 1 g/kg을 7일동안
투여한 군에서 부동시간이 감소되었다. 이런 결과는 補中益氣湯
加味方이 생쥐의 수영능력을 향상시켜 부동시간이 감소되나 단
기간의 투여보다는 장기간의 투여가 더 효과가 있다는 것을 보
여주는 것이다. 또한 혈장내 피로 물질의 함량 비교를 통해 면역
증강 효과를 간접적으로 확인했는데, glucose의 양은 補中益氣湯
加味方 1 g/kg을 투여한 군이 대조군에 비해 증가하였다. 이는
운동직후 일반적으로 glucose가 감소하는데 補中益氣湯加味方을
경구투여한 실험군에서 증가된 것으로 체내의 에너지원으로 작
용하고 있는 glucose 생성대사에 補中益氣湯加味方이 간접적으
로 관여하고 있음을 알 수 있다. 혈장 내 BUN의 함량은 대조군
에 비해 補中益氣湯加味方을 투여한 군에서 모두 약간 증가되었
다. 이런 결과는 補中益氣湯加味方이 체내의 단백질대사에도 관
여하고 있음을 의미한다. Crea tinine의 경우 대조군과 실험군 사
이에 차이가 없었다. LDH는 운동 직후에 상승하는데 대조군에
비해 補中益氣湯加味方을 0.1, 1 g/kg 투여한 군에서는 증가하였
고, 0.01 g/kg 투여한 군에서는 감소되어 補中益氣湯加味方이
LDH 수치 변화에 영향을 주고 있음을 간접적으로 확인할 수 있
었다. 또한 각종 효소와 호르몬의 기본 물질로 인식되고 있는 TP
의 함량변화는 대조군에 비해 약간 증가되었다. 이는 補中益氣湯
加味方이 운동 후에 변화하는 TP의 함량변화에도 영향을 주는
것으로 판단되며 운동 후에 문제가 되는 단백질 감소에 대한 적
절한 대응방법이 될 수 있으리라 생각된다. 면역학적 치료 접근
을 이용한 암 항원, 특이적인 Th, Tc 세포, 비특이적 대식세포,
자연 살해세포의 활성화는 암 조직의 파괴를 유도한다³⁰⁾ Th1형 축
진 세포활성물질의 유도, 특이적 보조제의 이용은 항암 면역을
강화시키고 암의 성장을 감소시키거나 막을 수 있다³¹⁾. 면역 반
응은 넓게 세포성·체액성을 매개로 하는 반응으로 분류된다.
IFN- ν , IL-2의 생성은 Th1형 세포성 면역반응에 관여하고 반면에
IL-4, IL-5, IL-6, IL-10의 생성은 Th2형 체액성 면역 반응에 관여
한다³²⁻³⁴⁾. 특히 면역 보조제와 조합을 이룬 많은 암 백신은 IFN-
 ν , IL-2와 같은 Th1 type의 세포활성물질의 생성을 이끄는 강한
세포성 면역 반응을 이끈다³⁵⁾. 무엇보다 IL-2는 면역조절 기능과
생물학적 특성을 가지고 있다. 다른 인자와 함께 그리고 항원,
mitogen, 또는 항 Ig 항체와 결합하여 IL-2는 B 세포의 증식을 조
절하고, 항원제공 세포를 분화시킨다³⁶⁾. 자연살해세포와 단핵 세
포, 대식세포는 IL-2에 반응하여 활성화 증식을 증가시킨다^{37,38)}.
IFN- ν 는 미생물의 병원균의 침입에 대항하여 숙주를 방어할 수

있는 세포활성 물질이다³⁹⁾. IFN- ν 는 면역에 기여하는 다양한 생
리적 반응을 유도한다. IL-4는 prototypic 면역조절 세포활성물질
로, 많은 세포활성물질과 마찬가지로 다양한 경로로 다양한 표적
세포에 영향을 준다. IL-4는 항체 생성, hematopoiesis, 염증 조절
그리고 T 세포 반응을 발달시키는데 중요한 역할을 하는데⁴⁰⁾,
본 연구에서 著者は 補中益氣湯加味方이 Th1형 세포활성물질 가
운데 IFN- ν 의 생성을 강하게 증가시킴을 확인하였다 (Fig. 2). 또
한 단백질 발현에서도 유사한 결과를 얻었다 (Fig. 5). 하지만
IL-2, IL-4의 생성에는 영향을 미치지 않았다. 이런 결과는 補中
益氣湯加味方에 의해 증가된 IFN- ν 가 면역증강 반응에 기여하여
면역증진 활성을 통한 질환 치료에 유용한 효과를 나타낼 수 있
음을 암시한다. 補中益氣湯加味方에 의한 면역세포들로부터의
이런 세포활성물질의 생성 증가는 補中益氣湯加味方の 면역기능
증강 효과를 예상할 수 있는 의미 있는 결과라고 생각된다.

결론

補中益氣湯加味方の 면역기능 증진 효과를 평가하기 위하여
강제수영부하시험에 의한 부동시간 측정과 혈장 내 피로와 관련
된 glucose, BUN, creatinine, LDH, TP의 함량변화를 관찰하였
다. 또한 T 세포주로부터 IFN- ν , IL-2, IL-4의 생성 비교 및 IFN- ν
단백질 발현을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

補中益氣湯加味方을 0.01, 0.1, 1 g/kg을 7일 동안 경구투여
한 후 강제 수영부하에서 2일, 7일 부동시간을 측정한 결과, 1
g/kg을 7일 동안 경구투여한 군에서 감소하였다. 혈장내
glucose, BUN, creatinine, LDH, TP의 함량변화를 대조군과 비교
한 결과 補中益氣湯加味方을 1 g/kg을 투여한 군에서 glucose,
LDH, BUN, TP의 함량은 증가하였고, 補中益氣湯加味方 0.01,
0.1 g/kg 투여군에서는 glucose의 함량이, 補中益氣湯加味方
0.01 g/kg 투여군에서는 LDH의 함량이 감소되었다. MOLT-4 세
포에 補中益氣湯加味方을 0.01-1 mg/ml의 농도로 처리하고 24
시간 배양한 후 상층액에서 IFN- ν 를 측정된 결과 대조군에 비해
모두 증가하였다. 특히 1 g/ml의 농도에서는 유의성 있는 결과
를 나타내었다. MOLT-4 세포에 補中益氣湯加味方을 0.01-1
mg/ml의 농도로 처리하고 24시간 배양한 후 상층액에서 IL-2를
측정한 결과 대조군에 비해 유의성 있는 차이가 없었다.
MOLT-4 세포에 補中益氣湯加味方을 0.01-1 mg/ml의 농도로 처
리하고 24시간 배양한 후 상층액에서 IL-4를 측정된 결과 대조군
에 비해 유의성 있는 차이가 없었다. MOLT-4 세포에 補中益氣
湯加味方을 0.01-1 mg/ml의 농도로 처리하고 24시간 배양한 후
단백질 발현을 관찰한 결과 대조군에 비해 모두 증가하였다.

이상의 생체내·외 실험 결과는 補中益氣湯加味方の 면역기
능 증진 효과를 부분적으로 입증한 것으로 임상적으로 유용하게
활용될 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 서설, 기초임상면역학, pp.10-12, 172, 고려의학, 서울, 2001.

2. 中島 泉, 新면역학입문, pp.13-15,244, 지쿠문화사, 서울, 1995.
3. 김형민, 면역과 알레르기, p.179, 신일상사, 서울, 1998.
4. 全國韓醫科大學 肺系內科學教室, 東醫肺系內科學, pp.469-472, 훈 문화사, 서울, 2002.
5. 鄭遇悅, 安圭錫, 韓方臨床病理學, p.34, 永林社, 서울, 1998.
6. 朴贊國 譯, 病因病機學, pp.106-112, 傳統醫學研究所, 서울, 1992.
7. 李東垣, 東垣十種醫書, pp.2-3, 五洲出版社, 臺北, 1981.
8. 許 俊, 東醫寶鑑, pp. 644-646, 南山堂, 서울, 2000.
9. 김구영, 病因論, pp.179-181, 도서출판 숲, 서울, 2001.
10. 尹用甲, 東醫方劑와 處方解說, pp.299-309, 의성당, 서울, 1998.
11. 大韓形象醫學會, 芝山形象醫案, pp.525-531, 芝山出版社, 서울, 2003.
12. 盧永範, 臨床方劑學講座, pp.391-392, 대성의학사, 서울, 2000.
13. 金吉宣, 運動負荷後の 疲勞恢復에 미치는 補中益氣湯 및 六味地黃湯의 效果, 慶熙大學校 韓醫科大學 論文集, 서울, 7, pp121-134, 1984.
14. 李泰浩, 陽虛證 誘發에 의한 補中益氣湯 및 六味地黃湯의 效果, 慶熙大學校 大醫院, 서울, 1986.
15. 尹用甲, 補中益氣湯 및 加減方이 白鼠와 家兔의 摘出子宮 및 血管運動에 미치는 影響, 圓光大學校 大醫院, 益山, 1987.
16. 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, 圓光大學校 大醫院, 益山, 1991.
17. Riddle SR, Murata M, Bryant S, Warren EH. T-cell therapy of leukemia. *Cancer Control*, 9, 114-122, 2002.
18. Abbas AK, Murphy KM, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature*, 383, 787-793, 1996.
19. Paul WE, Seder RA. Lymphocyte responses and cytokines. *Cell*, 76, 241-251, 1994.
20. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J. Immunol.* 136, 2348-2357, 1986.
21. Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu. Rev. Immunol.* 7:145-173, 1989.
22. Adams OD, Hamilton TA. Molecular basis of macrophage activation and its origins. New York: Oxford University Press, 75-114, 1992.
23. Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 229, 327-336, 1977.
24. Borsini F, Cesana R, Vidi A, Mennini T. Evidence that imipramine activates 5-HT_{1C} receptor function. *Eur. J. Pharmacol.* 203, 359-363, 1991.
25. Scuderi P, Sterling RE, Lam KS, Finley PR, Ryan KJ, Ray CG, Slymen DJ, Salmon SE. Raised serum levels of tumor necrosis factor in parasitic infections. *Lancet* 2:1364-1365, 1986.
26. 전국의과대학교수 譯, CURRENT 오늘의 진단 및 치료, pp.865-866, 도서출판 한우리, 서울, 1999.
27. 洪元植, 精校黃帝內經 素問, p.124, 285, 東洋醫學研究院 出版部, 서울, 1985.
28. Porsolt RD., Anton G., Blavet N. and Jalfre M. Behavioural despair in rats, a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur. J. Pharmacol.* 47, 379-91, 1978.
29. Hukabee WE. Relationship of pyruvate and lactate during anaerobic metabolism. I effects of infusion of pyruvate of glucose and of hyperventilation. *J. Clin. Invest.* 37, 224, 1958.
30. Dredge K., Marriott J.B., Todryk S.M. and Dalglish A.G. Adjuvants and the promotion of Th1-type cytokines in tumour immunotherapy. *Cancer Immunol. Immunother.* 51, 521-531, 2002.
31. Dredge K, Marriott JB, Todryk SM, et al. Protective anti-tumor immunity induced by a costimulatory thalidomide analog in conjunction with whole tumor cell vaccination is mediated by increased Th1-type immunity. *Immunology* 168, 4914-4919, 2002.
32. Romagnani S. Human TH1 and TH2 subsets: doubt no more. *Immunol. Today*, 12, 256-257, 1991.
33. Parronchi P, Macchia D, Piccinni MP, et al. Allergen- and bacterial antigen-specific T-cell clones established from atopic donors show a different profile of cytokine production. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88, 4538-4542, 1991.
34. Zurawski G, De Vries JE. Interleukin 13, an interleukin 4-like cytokine that acts on monocytes and B cells, but not on T cells. *Immunol. Today*, 15, 19-26, 1994.
35. Dalglish AG. Cancer vaccines. *Br. J. Cancer*, 82, 1619-1624, 2000.
36. Jelinek DF, Lipsky PE. Regulation of human B lymphocyte activation, proliferation, and differentiation. *Adv. Immunol.* 4, 1-59, 1987.
37. Kuziel WA, Greene WC. Interleukin-2. In A. Thomsen (Ed), *The cytokine handbook*. Academic Press, London, 83-102, 1991.
38. Minami Y., Kono T., Yamada K. and Taniguchi T. The interleukin-2 receptors: insights into a complex signalling mechanism. *Biochim. Biophys. Acta* 16,1114(2-3):163-177, 1992.
39. Samuel CE. Antiviral actions of interferons. *Clin. Microbiol. Rev.* 14, 778-809, 2001.
40. Brown MA, Hural J. Functions of IL-4 and control of its expression. *Crit. Rev. Immunol*, 17, 1-32, 1997.